UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

A. STEFANELLI: Il neurone di MAUTHNER degli Ittiopsidi *(Pisces, Amphibia)* 277

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

L. COURVOISIER: Der Einfluss der «Lorentz-Kontraktion» der Erde auf den Gang der Quarzuhren 286

A. EUGSTER und K. HINTERMANN: Höhenstrahlungen mit Photoplatten gelegentlich der schweizerischen Himalajaexpedition 1952 287

W. BUSER und U. IMOBERSTEG: Austauschreaktion und Szilard-Chalmers-Effekt an Kobalt- und Kupferhexacyanokobaltat (III) 288

A. W. REITZ and T. KALAFAWY: The Thermochromism of Di-β-naphthospiropyran 289

E. KELLENBERGER et LUCIE HUBER: Contribution à l'étude des équivalents des mitochondries dans les bactéries . . . 289

R. AMPRINO: Observations on the Fixation *in vitro* of Uranium to Sections of Bone 291

A. WILSKA: Membrane Structures in Mucus 293

S. DURAISWAMI, S. K. SREEPATHI RAO, and M. K. SUBRAMANIAM: Extra Reproduction of a Chromosome in Yeast . . . 293

L. VON UBISCH: Über Seeigelmerogone 294

A. WILSKA and M. KOTILAINEN: Living Nerve Structure Seen by New Light Optics 295

K. V. GIRI, P. R. KRISHNASWAMY, G. D. KALYANKAR, and P. L. NARASIMHA RAO: Separation and Identification of the Degradation Products of Purines and Nucleic Acids on Acid Hydrolysis by Circular Paper Chromatography 296

L. JÄNNES: Trikarbonsäurezyklus im Stoffwechsel von *Corynebacterium diphtheriae* 297

M. U. DIANZANI: On the Inactivating Properties of Liver Homogenates on Succinoxidase Activity of Isolated Mitochondria 298

T. HAMA: Substances fluorescentes du type ptérinique dans la peau ou les yeux de la grenouille (*Rana nigromaculata*) et leurs transformations photochimiques. 299

P. E. PILET: Etude physiologique du parasitisme de l'*Uromyces Pisi* (Pers.) de By, sur l'*Euphorbia Cyparissias* L. . . . 300

E. MARDONES, R. IGLESIAS, and A. LIPSCHUTZ: Comparative Antifibromatogenic Action of Progesterone and Δ^{11}-dehydroprogesterone 303

P. VON PLANTA und A. PLETSCHER: Die Beeinflussung der Fruktoseaufnahme des isolierten Zwerchfells durch Insulin 304

R. ROMETSCH und K. MIESCHER: Exakte Färbmethode für Farbversuche (Pro Experimentis) 307

G. BLOOM and U. FRIBERG: A Method for the Electromicroscopy of Tissue Mast-Cells (Pro Experimentis). 310

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

La Géologie. Par André Cailleux (Presses Universitaires de France, Paris 1952) et Les Roches. Par André Cailleux (Presses Universitaires de France, Paris 1952) (Ref. M. Matschinski) 311

The Exact Sciences in Antiquity. By O. Neugebauer (Munksgaard, Copenhagen 1951) (Ref. J. O. Fleckenstein) 311

Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas. Von Georg Tischler (Dr. W. Junk Publishers, Den Haag, 1950) (Ref. H. Merxmüller) 311

Biochemistry and Physiology of Protozoa. Edited by André Lwoff (Academic Press Inc., New York, 1951) (Ref. W. v. Buddenbrock) 312

Chemistry of Muscular Contraction. By A. Szent-Györgyi (Academic Press Inc., New York, 1951) (Ref. W. v. Buddenbrock) 312

Die Einteilung des Nervensystems nach seinen Leistungen. Von L. R. Müller (Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1950) (Ref. W. Bejdl) 312

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: I. GRUNDLAND, P. RUMPF, R. GALLAND, N. CABAU et J. SADET: Contribution à la chimiothérapie rationnelle de la tuberculose. Activité antituberculeuse de la bis-(dihydroxy-2,3-propoxyéthyl)-amine et de ses dérivés n-alcoylés . . 313

EXPERIENTIA

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

ESPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natura, science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an Fr. 32.– pour la Suisse; pour l'étranger fr. 38.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.
Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.
Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant.
Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.
Prix pour les annonces: 1/1 page fr. 220.–, ½ page fr. 132.–, ¼ page fr. 77.–. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.
L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und der Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.
Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 32.–, im Ausland sFr. 38.–.
Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschliesslich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluss 35 Tage vor Erscheinungstermin, das heisst am 10. des Monats für den folgenden Monat.
Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.
Insertionspreise: 1/1 Seite Fr. 220.–, ½ Seite Fr. 132.–, ¼ Seite Fr. 77.–; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.
Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

ESPERIENTIA esce a 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 32.– per la Svizzera; all'estero fr. 38.–. I prezzi vanno intesi valuta svizzera.
Tutti gli invii alla redazione di ESPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.
La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.
Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.
Prezzi per annunci: 1/1 pag. fr. 220.–, ½ pag. fr. 132.–, ¼ pag. fr. 77.–; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.
ESPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The annual subscription price by inland mail is fr. 32.–; other countries fr. 38.–. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.
The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.
Prices for advertising: 1/1 page fr. 220.–, ½ page fr. 132 –, ¼ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia IX/6

Benno Schwabe & Co., Basel
CIBA AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
Hans Huber, Bern
Ozalid AG., Basel
Sandoz AG., Basel
Sauter AG., Basel
Verlag Chemie, Weinheim

Internationale Zeitschrift für Vitaminforschung
International Review of Vitamin-Research
Revue internationale de Vitaminologie

Seit 1932 die einzige periodische Publikation dieses Gebietes. Das Herausgeberkollegium, das aus den bedeutendsten Gelehrten und sämtlichen Nobelpreisträgern der Vitaminforschung besteht, bürgt für das anerkannt hohe Niveau und die absolute Zuverlässigkeit der Publikationen. – Jährlich vier Hefte, die zu einem Band von 512 Seiten vereinigt werden. Jeder Band sFr. 52.–, Einzelnummer sFr. 14.–.

Since 1932 it is the only periodical publication in this important field. The board of editors is formed by distinguished scholars and all the scientists honoured with the Nobel Prize for merits in vitamin research are collaborators as well. These circumstances guarantee for the recognized high standard and absolute reliability of the publication. – Every year at least four numbers forming one volume of 512 pages. One volume sFr. 52.–, one copy sFr. 14.–.

Dès 1932 elle est l'unique publication de cet important domaine. Un comité d'éditeurs, formé par les éminents chercheurs et tous les gagnants du prix Nobel dans le domaine des vitamines, garantit le niveau élevé des publications. – Chaque année au moins 4 fascicules qui forment un volume de 512 pages. Prix par volume sFr. 52.–, un numéro sFr. 14.–.

REDACTORES:

Continent: E. Glanzmann, T. Gordonoff – Great Britain: Fr. Bicknell – U.S.A.: Tom D. Spies

AUS DEM INHALT VON VOL. XXIII (528 SEITEN):

F. di Raimondo: In vitro and in vivo antagonism between Vitamins and Antibiotics.

E. Fritzsche: Über Mangelernährung und Rachitis im Kanton Glarus.

T. Gordonoff und W. Minder: Versuche mit Kalziumisotop 45 Ca an rachitischen und mit Zitronensäure geheilten Ratten.

P. Meunier: Des carotènes aux rétinènes.

W. H. Schopfer, M. L. Bein et G. Besson: La dihydrothiamine, facteur de croissance pour quelques microorganismes et pour la racine de Pisum en culture pure.

W. H. Schopfer, M. L. Bein: L'homothiamine-glycol, antivitamine B_1.

R. Koch und Ad. Bohländer: Beziehungen von Vitaminen und Hormonen zum Leberglykogen.

E. Stangl: Das sogenannte Vitamin F (= lebensnotwendige ungesättigte Fettsäuren) und seine klinische Bedeutung.

P. S. Hench: The effects of hormones and vitamins on rheumatoid arthritis with special reference to cortisone, hydrocortisone and corticotropin.

G. R. Cowgill, R. W. Winters, R. B. Schultz and W. A. Krehl: Pantothenic acid deficiency and the adrenals: some recent experiments and their interpretation.

G. A. Elvehjem: Nutritional interrelationship.

R. R. Williams: Nutritional diseases of rice eaters as a world problem.

M. F. Furter: The development of a pratical process for enrichment of white rice.

W. P. Murphy: The story of liver.

C. G. King: Basic research in nutritions as a contribution to agriculture and to public health.

E. L. Sevringhaus: Clinical Significance of Enriching Cereal Foods.

T. H. Jukes: Folic Acid.

H. G. Luther, E. J. Goett, G. O. Cragwall: Recent development of vitamin A – availability and stability.

W. H. Sebrell jr.: Vitamins and Public Health.

W. Shive: Inhibition Analysis as a Method of Vitamin Research.

R. S. Harris: The Indigenous Edible Plants of Latin America.

T. D. Spies S. Dreizen, C. Currie, C. C. Buehl: The effect of supplements of vitamin B_{12} on the growth of children with nutritive failure.

K. Folkers: Research of the chemistry of vitamin B_{12}.

F. Hurtado and E. Galan: Vitamin A. Recent knowledge and review of work done in Cuba.

T. D. Spies, G. G. Lopez, R. E. Stone, R. Lopez-Toca, A. Reboredo and J. G. Rangel: Clinical Cases.

A. Zink: Folsäure, ihre Antagonisten, B_{22} und Animal Protein Factor und ihre Bedeutung für den tierischen und menschlichen Organismus.

E. C. Grob, W. H. Schopfer et G. G. Poretti: Nouvelles recherches sur la biosynthèse des caroténoïdes par Phycomyces blakesleeanus.

A. Giroud, T. Levy, J. Lefebvres et R. Dupuis: Chute du taux de la riboflavine au stade où se déterminent les malformations embryonnaires.

J. Erdos: Leber- sowie Kobalt-Leberpräparate und Phenylhadrazinämie.

Relata.

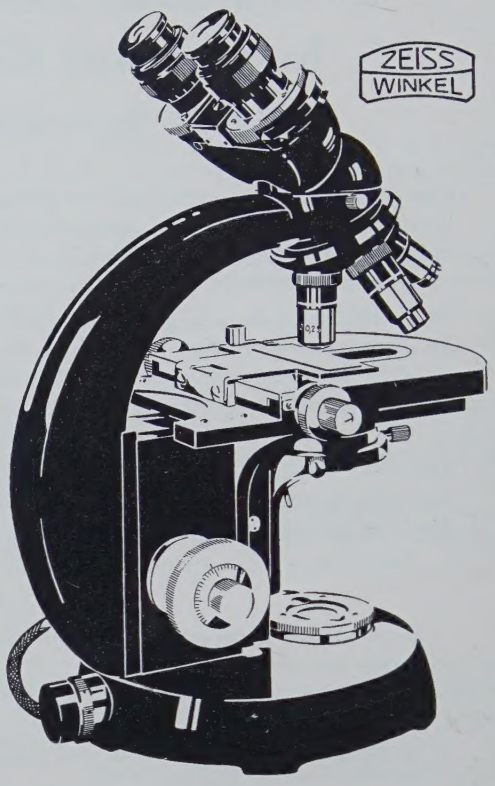
Durch jede Buchhandlung zu beziehen – Order this Review at your bookseller's – Abonnez la revue chez votre libraire

VERLAG HANS HUBER · BERN UND STUTTGART

NEUES **ZEISS**-WINKEL STANDARD-MIKROSKOP GF 525

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie
- Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung
- Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen
- Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive
- Vergrösserungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)
- Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor
- Neue Achromate und Neofluare mit dezimalgeometrischer Abstufung der Vergrösserungen



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

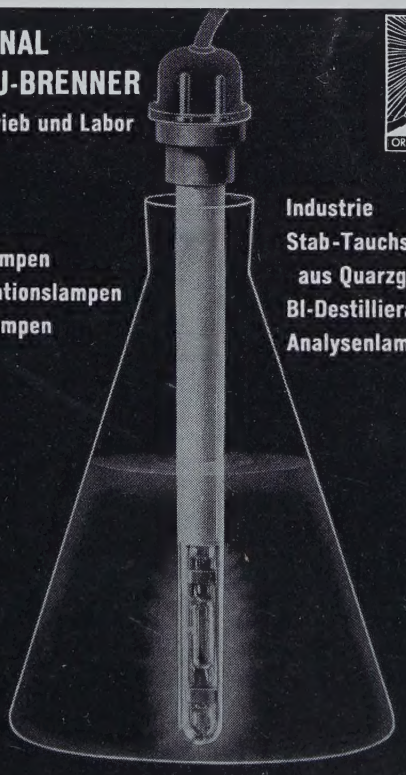
GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TEL.(051) 23 97 73
Zürich

ORIGINAL HANAU-BRENNER
für Betrieb und Labor

ORIGINAL HANAU

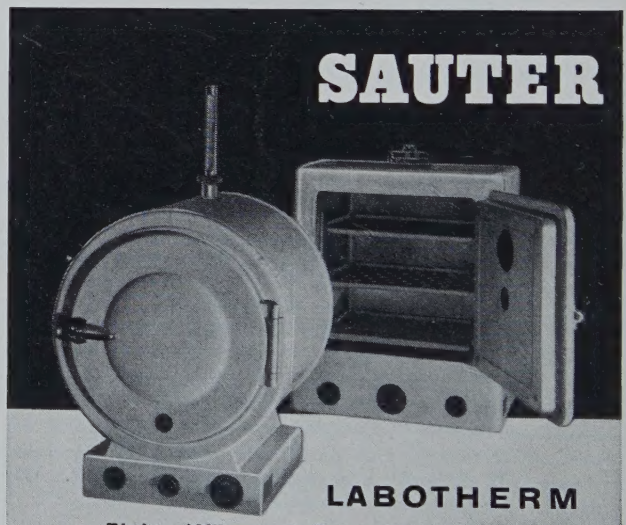
Labor
Tauchlampen
Sterilisationslampen
Flutexlampen

Industrie
Stab-Tauchsieder
aus Quarzglas
BI-Destillierapparate
Analysenlampen



OZALID AG ZÜRICH
Flaschengasse 5 Telephon (051) 24 47 57

SAUTER



LABOTHERM
Elektr. Wärmeschränke für Laboratorien

Prüfschränke für Farben und Lacke
Härteprüfung von Kunststoffen
Dichte - Feuchtigkeit - Säuregehaltprüfungen, Vorwärmung u.s.w.
Trockenschränke, Sterilisatoren
Brut- und Labschränke, Vakuumschränke

FR. SAUTER A.G.,
FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE, BASEL

EXPERIENTIA

Vol. IX - Fasc. 8 Pag. 277–316 15. VIII. 1953

Il neurone di MAUTHNER degli Ittiopsidi *(Pisces, Amphibia)*

Di ALBERTO STEFANELLI, Roma[1]

Introduzione

Sono ormai diversi anni che mi vado occupando dei neuroni di MAUTHNER degli Ittiopsidi, da un punto di vista anatomo-comparativo, embriologico, sperimentale e morfo-ecologico. Ho riassunto e discusso i risultati da me conseguiti sino al 1951 e quelli di altri autori in un articolo sintetico nel « Quarterly Review of Biology»[2] occupandomi soprattutto della determinazione e del differenziamento del neurone mauthneriano degli Anfibi e dei processi che intervengono nell'orientamento della fibra in accrescimento, inquandrando questi risultati nei problemi generali della neuroistogenesi, usando la cellula di MAUTHNER come materiale di esperimento data la precocissima possibilità di localizzazione del suo territorio istogenetico e traendo profitto delle sue peculiarissime condizioni di differenziamento.

Tralascio pertanto in questo mio articolo questi problemi, rimandando il lettore all'articolo citato, anche per la letteratura, per prendere quì in considerazione, alla luce delle mie ultimissime ricerche, la questione del significato morfologico e funzionale dei neuroni di MAUTHNER.

Cenno storico

Nel 1859 MAUTHNER[3] scoprì nel midollo spinale del luccio due fibre giganti che lo percorrevano nella sua lunghezza, senza però poter precisare la direzione della conduzione e senza descriverne l'origine. Queste grosse fibre, che in molti Teleostei possono raggiungere i 100 μ di diametro, vennero per molti anni considerate due fasci di fibre (fibre multiassiali di FRITSCH) e le cellule di origine furono considerate o nel midollo spinale (OWSYANIKOW[4]), attribuendo quindi ad esse una conduzione ascendente, o nel nucleo del VII (SANDERS[5]) o dell'VIII (FRITSCH[6], FULLIQUET[7], KOELLIKER[8], EDINGER[9]). Questi concetti furono così radicati che quando nel 1881 MAYSER[1] scoprì le due grosse cellule nel bulbo, all'altezza delle radici dell'VIII, non le mise in relazione alle fibre di MAUTHNER. Solo nel 1888 GORONOWITSCH[2] dimostrò come queste cellule fossero quelle di origine delle fibre giganti, definendo così la loro conduzione in senso discendente. Ma, ancora nel 1898, KOLSTER[3] non considera questa origine dando valore ascendente alle fibre. Successivamente l'origine bulbare viene confermata da vari autori tra cui il BURKHARDT[4], l'HALLER[5] ed il KINGSBURY[6]. Quest'ultimo mette in evidenza i rapporti dendritici delle cellule di MAUTHNER con l'area vestibolo-laterale.

Circa la terminazione distale delle fibre di MAUTHNER, mentre i più consideravano che esse si esaurissero nella estremità del midollo spinale, altri, tra cui il BURKHARDT[4], ritennero che avessero un percorso periferico, suddividendosi in rami uscenti con gli ultimi nervi spinali e andando ad innervare direttamente la muscolatura. Oggi più nessuno sostiene questa terminazione extramidollare ad eccezione di LEGHISSA[7] che la considera in avannotti di *Salmo*.

Morfologia

Lo stato attuale delle nostre conoscenze sulla morfologia dei neuroni di MAUTHNER sono essenzialmente basati sulle ricerche di TAGLIANI[8], di BECCARI[9] e di BARTELMEZ[10].

Le notevolissime dimensioni, l'elevata differenziazione, i numerosi rapporti che contraggono, fanno di questi neuroni un vero «apparato» o «sistema», pur costituito da due soli elementi. I pirenofori sono situati nel bulbo al livello delle radici del complesso VIII, e le due fibre, dopo essersi decussate, ad un livello un poco più caudale rispetto al livello di origine, si associano alle fibre del fascicolo longitudinale mediale e con questo raggiungono l'estremità caudale del midollo spinale.

L'aspetto del corpo cellulare, pur avendo delle caratteristiche comuni, presenta delle tipiche differenze nei

[1] Laboratorio di Istologia ed Embriologia della Facoltà di Scienze dell'Università di Roma.

[2] A. STEFANELLI, Quart. Rev. Biol. *26*, 17 (1951).

[3] L. MAUTHNER, Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien. *34*, 31 (1895).

[4] P. OWSYANIKOW, Bull. Cl. Phys. Mat. Acad. imp. St-Petersbourg *7*, 137 (1864).

[5] A. SANDERS, Phil. Trans. London *169*, 735 (1879).

[6] G. FRITSCH, *Untersuchungen über den feinern Bau des Fischgehirns* (Berlin 1878).

[7] G. FULLIQUET, Rec. Zool. suisse. *3*, 1 (1886).

[8] A. KOELLIKER, *Handbuch der Gewebelehre des Menschen*, vol. II (Leipzig 1896).

[9] L. EDINGER, *Vorlesungen über den Bau der nervösen Centralorgane des Menschen und der Thiere* (Leipzig 1878).

[1] P. MAYSER, Z. wiss. Zool. *36*, 259 (1881).

[2] N. GORONOWITSCH, Morph. Jb. *13*, 427 (1888).

[3] R. KOLSTER, Verh. Anat. Ges. Jena *12*, 198 (1898).

[4] K. R. BURKHARDT, Arch. Micr. Anat. *34*, 131 (1889).

[5] B. HALLER, Morph. Jb. *17*, 198 (1891).

[6] B. F. KINGSBURY, J. comp. Neurol. *3*, 139 (1895).

[7] S. LEGHISSA, Arch. ital. Anat. Embriol. *43*, 255 (1940).

[8] G. TAGLIANI, Arch. Zool. ital. *2*, 385 (1905).

[9] N. BECCARI, Arch. ital. Anat. Embriol. *6*, 660 (1907).

[10] G. W. BARTELMEZ, J. comp. Neurol. *24*, 87 (1915).

Teleostei, negli Anfibi urodeli e nelle larve degli Anuri (STEFANELLI[1]).

Ciò è essenzialmente dovuto al numero alla forma ed alla posizione dei dendriti, mentre il punto di emergenza del neurite è costante, in posizione dorso-mediale. Due sono i dendriti più cospicui, disposti negli Anfibi ai due poli della cellula, uno medialmente ed uno lateralmente, così che essa assume una tipica forma affusata; nei Teleostei invece essi sono disposti quasi ad angolo retto, uno diretto lateralmente ed uno ventralmente, così da conferire alla cellula una inconfondibile forma ad L capovolta. Tra gli Anuri e gli Urodeli la differenza è nel grado di sviluppo e nella diversa forma del dendrite laterale, lungo e diramato in due branche principali (una diretta all'area laterale ed una a quella vestibolare) negli Anuri, più corto, ma più grosso e ripetutamente diramato, negli Urodeli. Oltre a questi due dendriti vi sono altri dendriti minori rivolti ventralmente (fig. 1).

La fibra cilindrassile sorge, come si è detto, dal lato dorso-mediale della cellula; sottile all'emergenza, si ingrossa rapidamente e già alla decussazione risulta dotata della guaina mielinica. Il calibro della fibra va gradualmente aumentando sino ad un massimo nella regione cervicale, per poi gradualmente diminuire (FRITSCH[2], TAGLIANI[3], LEGHISSA[4]). La sua terminazione caudale è intramidollare senza presentare di norma sfioccature. Nei Teleostei la fibra di MAUTHER presenta numerose cortissime fibre collaterali che a mala pena sporgono dalla guaina mielinica e che conferiscono alla fibra un aspetto spinoso. Queste collaterali si mettono in rapporto sinaptico, come ora vedremo, con i neuriti delle cellule motorie spinali. Simili collaterali sono presenti, sebbene in minor numero, anche negli Urodeli, ma sono invece assenti nelle larve degli Anuri.

Rapporti sinaptici

Numerosi e complessi sono i rapporti che i neuroni di MAUTHNER contraggono.

Rapporti dendritici. Il dendrite laterale, mediante la sua biforcazione, si mette in rapporto con l'area della linea laterale (negli Anfibi detta «isola dorsale di KINGSBURY») e con l'area vestibolare. Il ramo ventrale si impegna tra le fibre radicolari dell'VIII e in qualche caso è stato osservato con evidenza un percorso periferico sino al ganglio VIII. Non è nota tuttavia l'ultima destinazione di questo ramo dendritico che da qualche autore, per questa sua caratteristica (HALLER[5]), è stato considerato come neurite. Il dendrite mediale (o medio-ventrale) si sfiocca tra le fibre del tratto tetto-spinale (impropriamente detto lemnisco tettale) e tra le cellule del tegmento motorio. I dendriti ventrali intermedi, più brevi e variabili di numero, si mettono essenzialmente in rapporto con il fascicolo longitudinale laterale che è prevalentemente formato da fibre bulbo-tettali (dirette al *torus semicircularis*) e da poche fibre tetto-bulbari (BECCARI[1]) ed è in rapporto con le fibre arcuate dorsali che dai centri statici vanno al tetto.

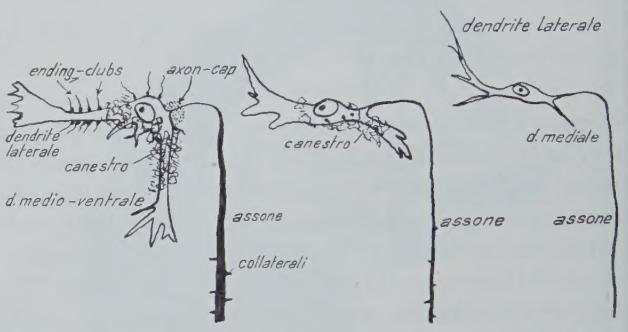


Fig. 1. Schema della struttura delle cellule di MAUTHNER nei Teleostei, negli Anfibi urodeli e nelle larve degli Anfibi anuri.

Sinapsi somatiche. Oltre a questi rapporti dendritici vi sono diverse sinapsi assai caratteristiche, direttamente collegate con il corpo cellulare o con la base dei grossi dendriti. 1° Il «canestro pericellulare» di BECCARI (o *pericellular nest* di MAYSER), costituito da fibre midollate e nude provenienti dal VII e dal VIII, dal fascicolo longitudinale laterale, da collaterali delle fibre arcuate dorsali e forse (secondo BECCARI) dal fascicolo longitudinale mediale. Tale canestro avvolge il corpo cellulare e la base dei due grossi dendriti e termina sul corpo cellulare con sinapsi a bottone (*terminal feet* di MARUI[2], *end feet* di TIEGS[3]). Questa sinapsi ha il massimo sviluppo nei Teleostei mentre è scarsamente sviluppata negli Urodeli; è assente come struttura tipica negli Anuri. 2° L'*axon cap*, o «massa x» di BECCARI, è un fitto neuropilo a forma di cupola adagiato attorno alla zona di emergenza del neurite, costituito esclusivamente di fibre nude (BARTELMEZ[4]) che deriverebbero dal fascio sopracommessurale. È presente solo nei Teleostei. 3° Le «clave terminali» o *ending clubs* (TIEGS[3], BARTELMEZ e HOERR[5], BODIAN[6]) sono particolari sinapsi di fibre derivanti dal sistema ottavo-laterale. Queste clave terminali non sono presenti negli Anfibi. Negli Anfibi pertanto, e specialmente nelle larve degli Anuri, tutti i sistemi sinaptici sono assai semplificati rispetto a quelli dei Teleostei[7].

Sinapsi assoniche. Particolarissime sinapsi, descritte da BECCARI[8], sono in relazione con l'assone e precisamente con le sue corte collaterali. I neuriti delle cellule

[1] A. STEFANELLI, Quart. Rev. Biol. *26*, 17 (1951).
[2] G. FRITSCH, *Untersuchungen über den feinern Bau des Fischgehirns* (Berlin 1878).
[3] G. TAGLIANI, Arch. Zool. ital. *2*, 385 (1905).
[4] S. LEGHISSA, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *20*, 122 (1946).
[5] B. HALLER, Morph. Jb. *17*, 198 (1891).
[1] N. BECCARI, Arch. ital. Anat. Embriol. *6*, 660 (1907).
[2] K. MARUI, J. comp. Neurol. *30*, 127 (1918).
[3] O. W. TIEGS, J. comp. Neurol. *52*, 189 (1931).
[4] G. W. BARTELMEZ, J. comp. Neurol. *24*, 87 (1915).
[5] G. W. BARTELMEZ e L. HOERRN, J. comp. Neurol. *57*, 401 (1933).
[6] D. BODIAN, J. comp. Neurol. *57*, 401 (1933).
[7] A. STEFANELLI e A. OSTI, Boll. Zool. *13*, 135 (1942).
[8] N. BECCARI, Arch. ital. Anat. Embriol. *6*, 660 (1907).

reticolari motorie spinali prima di portarsi alla radice di emergenza, si accostano alla fibra di MAUTHNER e si mettono in contatto con le sue collaterali, o direttamente o con una breve prominenza del neurite stesso. BECCARI chiamò questo rapporto sinapsi «asso-assonica».

Significato morfologico

L'opinione dei più antichi autori e quella dello stesso TAGLIANI[1] era che la cellula di MAUTHNER fosse un particolare elemento dei centri vestibolari. Alcuni la considerarono un elemento specializzato del nucleo di DEITERS. BECCARI[2], contro l'opinione allora dominante, suppose che si dovesse piuttosto considerare la cellula di MAUTHNER un elemento del tegmento motorio, considerandola uno specializzato elemento reticolare. Ricordo tuttavia come questa derivazione avesse allora un relativo valore in quanto il BECCARI stesso riteneva che lo stesso nucleo di DEITERS fosse un gruppo specializzato di cellule reticolari staccatesi dalla posizione normale e migrato verso la radice dell'VIII. JOHNSTON[3], a ragione secondo me, si è opposto contro questa derivazione e io stesso ho potuto definire nei Petromizonti[4] una origine ben diversa del nucleo di DEITERS: dai così detti nuclei ottavo-motori di TRETIAKOFF, che con i centri tegmentali non hanno nulla a che vedere.

Lo studio comparativo da me condotto nei Petromizonti mi ha permesso invece di identificare tra gli elementi giganti reticolari una coppia omologabile perfettamente per posizione e rapporti con la coppia mauthneriana dei Pesci e Anfibi. Lo studio dei Teleostei anguilliformi (*Anguilla*) mi ha dato una ulteriore conferma di questo fatto: che le cellule di MAUTHNER altro no sono che una coppia particolarmente differenziata di elementi reticolari del tegmento. Infatti, tra le diciassette coppie di elementi giganti, una coppia è perfettamente omologabile alla coppia di MAUTHNER sebbene non ne abbia l'elevato differenziamento e non dia origine alla fibra gigante (STEFANELLI[5], STEFANELLI e CAMPOSANO[6]). Nelle larve di *Grongo* e di *Murena*, BAFFONI (osservazione inedita) ha potuto constatare come il neuroblasta mauthneriano sia identificabile; ma poi non si sviluppi di più degli altri elementi reticolari.

Un'altra dimostrazione della natura tegmentale della cellula di MAUTHNER è deducibile dalle mie osservazioni nelle larve di Anfibi anuri[7]. Mentre in molte specie sono presenti e costituiscono con il loro neurite un caratteristico apparato mauthneriano (in *Rana*, *Hyla*, *Discoglossus*, *Xenopus*), seppure semplificato nei riguardi di vari sistemi sinaptici, mancano nelle larve dei Bufonidi (*Bufo vulgaris*, *B. viridis*), sebbene alle volte si possa riconoscere nella loro sede la presenza di una cellula tegmentale che però non ha assunto nessuna delle caratteristiche mauthneriane, tra cui la grandezza del pirenoforo e la grossezza della fibra (STEFANELLI[1], ZACCHEI[2]). Va notato che mentre nel *Discoglossus* di Sardegna le cellule di MAUTHNER sono presenti, pare, per lo meno in base a un lotto di materiale ricevuto, che manchino, con caratteristica simile a quella dei Bufonidi, in quelli di Sicilia. Ma la cosa merita una conferma poichè potrebbe essere interessante per questioni di sistematica. Inoltre interessante è il caso della *Rana esculenta* in cui ho potuto constatare la costanza al livello della radice del V di un altra coppia di elementi giganti, non inferiori in grandezza a quella mauthneriana, che ho chiamati «elementi premauthneriani»[3].

Funzione

I primi osservatori, non conoscendo la morfologia e la natura dei neuroni di MAUTHNER, attribuirono loro significati assai diversi che si sono poi dimostrati errati. Così OWSYANIKOW[4] e STIEDA[5] attribuirono loro un valore commessurale; KOLSTER[6] ritennero le fibre a conduzione ascendente e quindi di natura sensoria; BURKHARDT[7] li considerò neuroni motori diretti attribuendo alle fibre un percorso periferico (una simile concezione è stata di recente ripresa, come si è detto, da LEGHISSA[8]). Anche altri autori, come l'HALLER[9], attribuirono ai neuroni di MAUTHNER un valore motorio diretto, ma considerando fibre motorie con percorso periferico i dendriti!

Solo TAGLIANI[10], BECCARI[11] e BARTELMEZ[12], in base alle loro precise identificazioni morfologiche basate su metodi argentici, hanno potuto attribuire ai neuroni di MAUTHNER un giusto valore funzionale, anche se, come vedremo dalle mie recenti osservazioni, alcuni aspetti debbano essere modificati.

TAGLIANI pose in relazione questi neuroni con l'attività natatoria esplicata con il movimento ortotonico del tronco e della coda. BECCARI, tenendo presente la natura tegmentale di questi elementi, li considerò deputati sia alla coordinazione dei movimenti ortotonici del tronco e della coda, sia motori diretti in base alla sua interpretazione di centri motori iniziali attri-

1 G. TAGLIANI, Arch. Zool. ital. *2*, 385 (1905).
2 N. BECCARI, Arch. ital. Anat. Embriol. *6*, 660 (1907).
3 J. JOHNSTON, Anat. Anz. *37*, 153 (1910).
4 A. STEFANELLI, Arch. Zool. ital. *20*, 117 (1934); *24*, 209 (1937).
5 A. STEFANELLI, Acta Pont. Acad. Sci. *7*, 26 (1943).
6 A. STEFANELLI e A. CAMPOSANO, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *20*, 19 (1946).
7 A. STEFANELLI, Riv. Biol. *41*, 249 (1949); Boll. Zool. *16*, 139 (1949); Rend. Accad. naz. Lincei *8*, 59 (1950); *Genetic Neurology* (Chicago 1950).

1 A. STEFANELLI, Rend. Accad. naz. Lincei. *7*, 146 (1949).
2 A. ZACCHEI, Rend. Accad. naz. Lincei. *7*, 150 (1949).
3 A. STEFANELLI, Boll. Zool. *13*, 117 (1942).
4 P. OWSYANIKOW, Bull. Cl. Phys. Mat. Acad. imp. St-Petersbourg *7*, 137 (1864).
5 L. STIEDA, Z. wiss. Zool. *18*, 1 (1867); *20*, 273 (1870).
6 R. KOLSTER, Verh. Anat. Ges. Jena *12*, 198 (1898).
7 K. R. BURKHARDT, Arch. Micr. Anat. *34*, 131 (1889).
8 S. LEGHISSA, Arch. ital. Anat. Embriol. *43*, 255 (1940).
9 B. HALLER, Morph. Jb. *17*, 198 (1891).
10 G. TAGLIANI, Arch. Zool. ital. *2*, 385 (1905).
11 N. BECCARI, Arch. ital. Anat. Ambriol. *6*, 660 (1907).
12 G. W. BARTELMEZ, J. comp. Neurol. *24*, 87 (1915).

buita ai centri tegmentali dei Vertebrati inferiori, escludendo invece alla cellula di MAUTHNER il valore di particolare cellula acustica come era propenso a credere TAGLIANI, che la omologava al nucleo acustico ventrale.

Anche TELLO[1] si collega al punto di vista di BECCARI e HERRICK[2], confermandone i dati, e mette in risalto come negli Ittiopsidi il sistema di MAUTHNER possa essere stimolato dalla periferia attraverso i centri vestibolo-laterali e centralmente attraverso i tratti spino-bulbari e tetto-bulbari e dal fascicolo longitudinale mediale e, localmente, dagli altri centri del tegmento motorio.

Interessante, sebbene manchino sicure prove del fatto, è l'interpretazione di COGHILL[3] che attribuisce sì alle cellule di MAUTHNER un valore nella natazione, ma non come elementi eccitatori, ma di inibizione, basandosi sopratutto sul fatto che i rapporti delle fibre di MAUTHNER nel midollo spinale non sono solo con le cellule motorie radicolari, ma anche con elementi intercalari.

Anche SZEPSENWOL[4] in base a sue osservazioni sulla neurofibrillazione nella istogenesi degli Anfibi anuri (invero poco convincenti nella documentazione) vede evidenti rapporti tra sviluppo di questo neurone e l'iniziarsi della attività natatoria. A simili conclusioni giunge il LEGHISSA[5] con sue osservazioni sulla neuroistogenesi e comportamento negli embrioni e larve di *Amblystoma* (va sempre ricordata la sua inaccettabile opinione di una innervazione diretta della muscolatura codale da parte delle fibre di MAUTHNER, inacettabile sia per la natura tegmentale di questi neuroni [sarebbe come dire che le fibre del fascicolo longitudinale mediale hanno percorso periferico], sia per non essere mai riuscito a constatare *de visu* questo fatto).

DETWILER[6], con diversi esperimenti, cercò di indagare sul significato funzionale di questi neuroni asportando, in embrioni di *Amblystoma*, una o entrambe le cellule di MAUTHNER e comparando quindi il comportamento degli operati con soggetti normali e con operati di asportazione di una o entrambe le otocisti. L'autore conclude confermando il valore di questi neuroni nella coordinazione del movimento natatorio, influendo sulla attività flessoria della coda.

Anch'io ho ripreso queste esperienze operando embrioni allo stadio di bottone codale di *Rana esculenta*, sia di asportazione dell'area di differenziamento dei neuroni di MAUTHNER (da un lato o da entrambi), sia asportando una o entrambe le otocisti, sia interrompendo l'allungato anteriormente o posteriormente al livello delle cellule di MAUTHNER[1]. In conclusione queste esperienze hanno dimostrato che le larve operate di asportazione delle cellule di MAUTHNER manifestano difetti di natazione dopo tre giorni dalla operazione, ma come all'ottavo giorno questi scompaiano. Invece negli operati di asportazione delle otocisti i disturbi nel nuoto si manifestano solo dopo otto giorni, ma i difetti non scompaiono. È evidente dal differente comportamento l'indipendenza relativa della attività mauthneriana da quella vestibolare e come già nell'embrione la sua funzione possa essere sostituita da meccanismi vicarianti. Vedremo l'importanza di questa osservazione per quello che diremo in seguito sui meccanismi vicarianti che naturalmente si manifestano in alcuni Teleostei.

Il BECCARI, nel suo fondamentale lavoro del 1907[2], attribuisce grande importanza per lo sviluppo dell'apparato mauthneriano alla linea laterale e ritiene che, filogeneticamente, con lo sparire di questa sparisca anche l'apparato mauthneriano. Questo concetto è risultato vero dalle mie osservazioni, ma non considerando la linea laterale a se stante, ma associata allo sviluppo della coda quale organo di propulsione nel nuoto. Già TAGLIANI aveva espresso il concetto del rapporto di questi neuroni col movimento ortotonico del tronco e della coda: io limito nettamente questa relazione al solo movimento della coda e considero lo sviluppo dell'apparato mauthneriano in relazione con la linea laterale solo in quanto collegata con i centri motori della coda. Infatti mancano i neuroni di MAUTHNER in Teleostei, pur munitissimi di linea laterale, ma sprovvisti di coda (*Orthagoriscus*) o sedentari o con movimento natatorio prevalentemente dovuto al moto del tronco (anguilliformi), e così mancano nello *Xenopus* adulto in cui pure è presente una sviluppatissima linea laterale, ma la coda si è perduta con la metamorfosi (STEFANELLI[3]). Anche sperimentalmente ho potuto controllare la veridicità della importanza della coda asportandola a tritoni adulti e impedendone la rigenerazione con la cucitura dei lembi cutanei del moncone: si ha una netta ipotrofia della cellula (STEFANELLI[4]).

Reciprocamente, mancano i neuroni di MAUTHNER in Anfibi urodeli muniti di coda, ma privi di linea laterale, in quanto specie adattati a vita esclusivamente terragnola (*Geotriton*)[3]. In altre parole, per lo sviluppo dell'apparato mauthneriano occorre che siano sviluppati entrambi gli organi, coda, quale organo natatorio, e linea laterale, in quanto questi neuroni servono essenzialmente alla connessione tra questo organo di senso e i centri motori della coda: è sufficiente pertanto l'assenza di uno dei due estremi perchè,

[1] F. TELLO, Trab. Lab. Invest. Biol. Madrid *7*, f. 1 (1909).
[2] C. J. HERRICK, J. comp. Neurol. *24*, 343 (1914).
[3] G. E. COGHILL, J. comp. Neurol. *42*, 1 (1926); *Anatomy and the Problem of Behaviour* (Cambridge 1929); Psychiat. neurol. Bladen *38*, 386 (1934).
[4] J. SZEPSZNWOL, C. r. Soc. Biol. *119*, 10 (1935); C. r. Ass. Anat. Montpellier *30*, 495 (1935).
[5] S. LEGHISSA, Arch. Zool. ital. *29*, 213 (1941).
[6] S. R. DETWILER, J. Exp. Zool. *48*, 15 (1927); *64*, 415 (1933); *104*, 343 (1947).

[1] A. STEFANELLI, Mem. Accad. naz. Lincei *1*, 25 (1947).
[2] N. BECCARI, Arch. ital. Anat. Embriol. *6*, 660 (1907).
[3] A. STEFANELLI, Riv. Biol. *41*, 249 (1949); Boll. Zool. *16*, 139 (1949); Rend. Accad. naz. Lincei *8*, 59 (1950); *Genetic Neurology* (Chicago 1950).
[4] A. STEFANELLI, Rend. Accad. naz. Lincei *13*, 294 (1952).

inutili, non si sviluppino. È questo quello che è risultato dalle osservazioni morfo-ecologiche da me condotte su vasto materiale e che sono oggetto del prossimo paragrafo.

Morfologia ecologica

I più evidenti fatti che ci illuminano sulla attività funzionale dei neuroni di MAUTHNER sono le osservazioni di morfologia ecologica ora brevemente accennate. Questo metodo, proposto e valorizzato dal COTRONEI (1926), mio maestro, mi ha dato nel campo della neurologia (metodo che in questa applicazione potremo pertanto definire di neurologia ecologica) notevoli frutti (nello studio del paleocerebello, dei centri vestibolari, dei centri tegmentali). Si tratta, con questo metodo, di esaminare le condizioni di determinati apparati nervosi in animali, per quanto possibile affini zoologicamente, e che diversifichino più che possibile in determinate attività relativamente alle diverse condizioni ecologiche a cui sono soggetti. La natura, col suo principio di adattamento, compie l'esperienza e allo studioso non resta che metterla in evidenza sapendo scegliere opportunamente le forme da comparare. E queste esperienze della natura sono incruente e assai più perfette di quelle che lo sperimentatore può eseguire con il suo bisturi!

Così, se durante la vita di una animale vi sono profonde differenze ecologiche con il passaggio dalla vita larvale a quella dell'adulto, accompagnata da una metamorfosi organica più o meno profonda, tenendo presenti le mutate condizioni funzionali, possiamo trarre utilissime notizie sul significato funzionale di determinati centri e vie. Così, per lo studio funzionale dell'apparato mauthneriano, mi è stato validissimo lo studio comparativo tra Anfibi anuri e urodeli, tra forme acquatiche e terragnole, e tra Anuri prima e dopo la metamorfosi, e, tra i Teleostei, tra specie con tipica attività della coda nel nuoto e specie anure o con coda trasformata, o ridotta, o anguilliformi, tra specie sedentarie, rivierasche, e specie d'alto mare, tra Teleostei nuotatori modesti e forti nuotatori (in genere i predatori).

Studiando le larve di diversi Anuri[1], ho potuto constatare come il neurone di MAUTHNER sia presente in *Rana, Raganella, Discoglossus* (di Sardegna), *Xenopus*, ma siano assenti, come neuroni specializzati, nei Bufonidi (*Bufo vulgaris* e *B. viridis*). In relazione a questo fatto si può constatare come nei Bufonidi la larva abbia un modesto sviluppo della linea laterale, come si può constatare non solo dallo studio dei bottoni periferici, ma anche dallo sviluppo modestissimo dell'isola dorsale di KINGSBURY; inoltre la coda è poco muscolosa e con pinne poco sviluppate e infine la vita larvale è assai breve, poco meno di un mese (nella *Rana* è di due o tre mesi, ma le larve possono anche svernare).

Con la metamorfosi si ha in tutti gli Anuri l'involuzione degli elementi mauthneriani, più o meno rapidamente, anche in quelle specie che, come lo *Xenopus*, non abbandonano mai l'acqua, nemmeno dopo la metamorfosi, e in cui vi è un notevolissimo sviluppo della linea laterale. Già LARSELL[1] aveva osservata l'involuzione della cellula di MAUTHNER con la metamorfosi in *Rana pipiens* (1934) ed io ho potuto dimostrare essere questo un fenomeno generale negli Anuri. Recentemente TUSQUES[2] dichiarò che ciò non avviene. In realtà tale atrofia di norma non è subitanea e la presenza delle cellule si protrae per qualche tempo e in alcuni casi sono state descritte anche in giovani adulti (BECCARI[3]). Ma esse sono atrofiche, con cromatolisi diffusa, con citoplasma che con i metodi argentici appare omogeneo, senza neurofibrille, e, quel che è più importante, con sviluppo ridotto dei dendriti e la completa atrofia del neurite. In tali condizioni anche la eventuale sopravvivenza della cellula nei giovani non ha valore da un punto di vista funzionale. Nell'*Hyla* e *Rana* l'atrofia completa si manifesta in genere circa dopo un mese dalla metamorfosi (STEFANELLI[4], BAFFONI e CATTE[5]) mentre in *Xenopus* essa avviene circa dopo tre mesi (STEFANELLI[6]). Ma, pur con diversa rapidità, l'involuzione delle cellule di MAUTHNER negli Anfibi anuri è un fatto generale e va messo in relazione con l'atrofia della coda (non della linea laterale perchè va ricordato che nell'adulto di *Xenopus* tale sistema di senso è sviluppatissimo: MAURER, CALABRESI, FARHRENHOLZ). Interessante è il fatto constatato nel mio Laboratorio da BAFFONI e CATTE[5] della più rapida involuzione delle cellule di MAUTHNER accelerando la metamorfosi di girini di Anuri trattati con estratti tiroidei. Negli Anfibi urodeli trattati alla stessa maniera si ha solo una ipotrofia cellulare (BAFFONI[7]). Anche con la amputazione della coda in girini di Anuri (BAFFONI[8]) si ha una più rapida involuzione della cellula.

Negli Urodeli non vi è atrofia con la metamorfosi e la cellula si presenta ben sviluppata nell'adulto ed è raggiunto un grado di differenziamento maggiore che nelle larve degli Anuri (fig. 1). Tuttavia anche gli Urodeli ci offrono due bellisimi esempi della relazione tra questi neuroni e lo sviluppo della coda quale organo della natazione. Così mancano i neuroni di MAUTHNER in *Geotriton* (intendo la presenza di neuroni differenziati

[1] A. STEFANELLI, Riv. Biol. *41*, 249 (1949); Boll. Zool. *16*, 139 (1949); Rend. Accad. naz. Lincei *8*, 59 (1950); *Genetic Neurology* (Chicago 1950); Rend. Accad. naz. Lincei *7*, 146 (1949); Ricerca sci. *20*, 5 (1950).

[1] O. LARSELL, J. comp. Neurol. *60*, 473 (1943).

[2] L. TUSQUES, C. r. Soc. Biol. *165*, 1556 (1951).

[3] N. BECCARI, *Neurologia comparata* (Firenze 1934).

[4] A. STEFANELLI, Riv. Biol. *41*, 249 (1949); Boll. Zool. *16*, 139 (1949); Rend. Accad. naz. Lincei. *8*, 59 (1950); *Genetic Neurology* (Chicago 1950).

[5] G. BAFFONI e G. CATTE, Riv. Biol. *43*, 373 (1951).

[6] A. STEFANELLI, Ricerca sci. *20*, 5 (1950).

[7] G. BAFFONI, Rend. Accad. naz. Lincei *14*, 138 (1953).

[8] G. BAFFONI, Rend. Accad. naz. Lincei *12*, 189 (1952).

e non di cellule tegmentali che, per posizione, possono essere omologati a questi) che vive in luoghi umidi, ma non va mai in acqua e partorisce figli già metamorfosati; la sua coda è del tutto priva di pinne e non vi è organo della linea laterale (STEFANELLI[1]). Interessante è anche la condizione del *Triton cristatus* in cui ho potuto constatare come le dimensioni delle cellule di MAUTHNER varino con le stagioni, essendo più grosse in primavera durante il periodo della riproduzione quando l'animale vive nell'acqua e più ridotte in inverno quando passa il letargo all'asciutto. È noto come ciclicamente si sviluppino le pinne codali e come i bottoni della linea laterale da una posizione profonda i portino alla superficie della pelle. Infine, sperimentalmente (STEFANELLI[2]), amputando Tritoni della coda, e impedendo la rigenerazione con la cucitura dei lembi cutanei, si ha l'atrofia della cellula.

Altre importanti relazioni di sviluppo delle cellule di MAUTHNER con lo sviluppo della coda quale organo del nuoto ci sono offerte dai Teleostei.

Già TAGLIANI[3] aveva notata l'assenza delle fibre di MAUTHNER in un Teleosteo senza coda, l'*Orthagoriscus mola*, e così pure in diversi pesci di fondo (*Lophius, Uranoscopus, Blennius*). In realtà, l'assenza di tali cellule e fibre si ha solo nelle forme sedentarie ed io l'ho potuta controllare in *Uranoscopus*, ma in *Blennius*, come in altre forme di fonde studiate da un mio collaboratore (DE ANGELIS[4]), quali il *Gobius jozo*, il *Clinus argenteus*, il *Trachinus radiatus*, la *Solea impar*, la *Scorpaena porcus*, la *Trigla corax* e l'*Arnoglossus grhomanni*, le cellule sono presenti, seppure di ridotte dimensioni e munite in genere di un cospicuo *axon cap*. Ma la fibra non è di dimensioni peculiari e non è riconoscibile tra le altre del fascicolo longitudinale mediale.

Così mancano tipici neuroni di MAUTHNER negli anguilliformi. Nelle Anguille adulte (STEFANELLI[5], STEFANELLI e CAMPOSANO[6]) vi sono 17 coppie di elementi tegmentali: una coppia di queste, per posizione e rapporti, è omologabile alla coppia mauthneriana, ma non ha nessuna delle caratteristiche specifiche. Non produce infatti fibre giganti e non esistono gli speciali sistemi sinaptici. Che queste cellule siano le omologhe di quelle mauthneriane lo si vede ancor meglio nelle larve (osservazioni inedite in *Grongo* e *Murena* di BAFFONI) in cui queste cellule, come quelle di MAUTHNER, hanno una precocissima differenziazione dovuta alle dimensioni del nucleo (come è stato osservato per le cellule di MAUTHNER tipiche di *Brachydanio* da STEFANELLI e BAFFONI[1]); ma queste cellule poi non subiscono un ulteriore differenziamento specifico, ma solo quello di elementi reticolari giganti.

Questa condizione degli anguilliformi è in evidente rapporto con la forma di natazione determinata più che dal moto della coda, dal movimento serpentino di tutto il lunghissimo tronco.

Studiando recentemente[2] la condizione dei neuroni di MAUTHNER in Teleostei di forma tipica con varia attività natatoria, ho potuto constatare una condizione apparentemente paradossale: mentre negli adulti di Teleostei d'acqua dolce e di mare che vivono in relazione con il fondo, e non sono dotati di particolare attività natatoria, l'apparato mauthneriano è ben sviluppato e si notano le due fibre di MAUTHNER di notevoli dimensioni (fig. 3*G*), nei Teleostei dotati di elevata attività natatoria, quali sono quelli di alto mare, abissali e predatori in genere, anche d'acqua dolce, i neuroni di MAUTHNER presentano condizioni di profonda atrofia sino alla completa distruzione (fig. 2. *C, E, F*). Tale atrofia è di vario grado nelle diverse specie ed è sopratutto notevole negli adulti di maggior mole (nell'ambito delle dimensioni somatiche specifiche) e la modalità della atrofia cellulare e della fibra è anche varia in diverse specie. Così, mentre nei Teleostei abissali da me studiati (*Maurolicus pennati, Argyropelacus hemigymmnus, Scopaelus benoiti*) e in *Pelamis sardoa*, si osserva una degenerazione cellulare a carattere colliquativo, con fase di rigonfiamento a bolla del nucleo, così che in molti individui al posto della cellula rimane una cavità ovoidale (fig. 2*F*), in altri, come in *Clupea, Esox lucius, Engraulis* e, in grado minore, in *Salmo* e in *Brachydanio*, si ha una degenerazione per gelazione che porta ad un graduale insecchimento del corpo cellulare (fig. 2 *C,E*). In questi un residuo della cellula si può osservare anche in individui di una certa mole.

Fenomeno interessante è lo straordinario sviluppo che assumono i sistemi sinaptici e specialmente l'*axon cap* attorno alla cellula che sta per degenerare e tali sistemi sono ancora osservabili in individui in cui la cellula è già completamente distrutta ad affollare la sede che questa prima occupava (fig. 2 *C,E*). Non mi è dato di sapere per ora se in individui molto vecchi anche questi sistemi finiscano per reggredire. Curioso è anche il fatto della maggior resistenza della grossa fibra così che in certi casi è possibile osservarla ancora in apparenti buone condizioni quando già la cellula è distrutta. Allora si ha l'impressione che questa fibra ad un certo punto si sfiocchi in un groviglio di fibre: i sistemi sinaptici residui. È questo l'aspetto che è stato osservato da MAYSER[3] e che ha fatto supporre la fibra a conduzione ascendente considerando tale

[1] A. STEFANELLI, Riv. Biol. *41*, 249 (1949); Boll. Zool. *16*, 139 (1949); Rend. Accad. naz. Lincei. *8*, 59 (1950); *Genetic Neurology* (Chicago 1950).

[2] A. STEFANELLI, Rend. Accad. naz. Lincei *13*, 294 (1952).

[3] G. TAGLIANI, Arch. Zool. ital. *2*, 385 (1905).

[4] C. DE ANGELIS, Boll. Pesca., Pisc., Idrobiol. *5*, ... (1950).

[5] A. STEFANELLI, Acta Pont. Acad. Sci. *7*, 26 (1943).

[6] A. STEFANELLI e A. CAMPOSANO, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *20*, 19 (1946).

[1] A. STEFANELLI e G. BAFFONI, Rend. Accad. gaz. Lincei *12*, 110 (1952).

[2] A. STEFANELLI, Rend. Accad. naz. Lincei (in stampa).

[3] P. MAYSER, Z. wiss. Zool. *36*, 259 (1881).

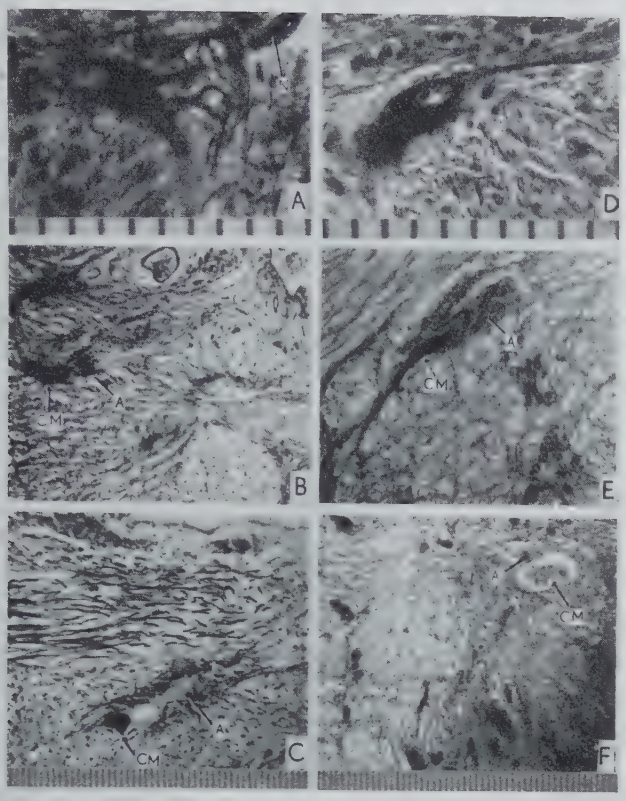


Fig. 2. Cellule di MAUTHNER di: *A*, *Brachydanio rerio* di un mese (animale lungo 10 mm); *B*, *Cyprinus auratus* (animale di 20 cm); *C*, *Esox lucius* (di 60 cm); *D*, *Salmo iridaeus* (avannotto di 30 mm); *E*, *Salmo fario* (di 30 cm); *F*, *Pelamis sardoa* (di 45 cm). Notare in *B*, *C*, *E* il grande sviluppo dell'*axon cap* (*A*), specie in *C* ed *E*. In *F* notare la degenerazione colliquativa della cellula di MAUTHNER (*CM*) In *A* con (*N*) e indicata la fibra nella regione del chiasma. Metodo BODIAN al protargolo; ogni divisione della scala in calce 10 μ.

groviglio, che definì un *caput medusae*, quale arborizzazione terminale della fibra (vedi figura 2*C*, *E* lettera *A*). La maggior resistenza della fibra è probabilmente da mettersi in relazione con la sua condizione maggiormente gelificata.

Le ricerche condotte da BAFFONI e SERRA[1] su un piccolo e vivacissimo Teleosteo d'acqua dolce, il *Brachydanio rerio*, hanno potuto illustrare tutto il ciclo della citomorfosi di questi neuroni dimostrando tali modificazioni di aspetto.

Ho detto che tale distruzione dell'apparato mauthneriano, apparato tipico del nuoto, proprio nei Teleostei più forti nuotatori, sia solo un paradosso apparente. Facendo infatti un esame comparativo (STEFANELLI[2]) tra specie in cui tale apparato si conserva e specie in cui si distrugge, si può constatare la enorme differenza di sviluppo del fascicolo longitudinale mediale. Nella figura 3*G* e *H* sono illustrate le condizioni di questo fascicolo, all'altezza del calamus, di un *Cyprinus* (di 20 cm di lunghezza corporea) e di un luccio di 60 cm. Pur considerando le differenze di mole è evidente il numero assai superiore di fibre nel

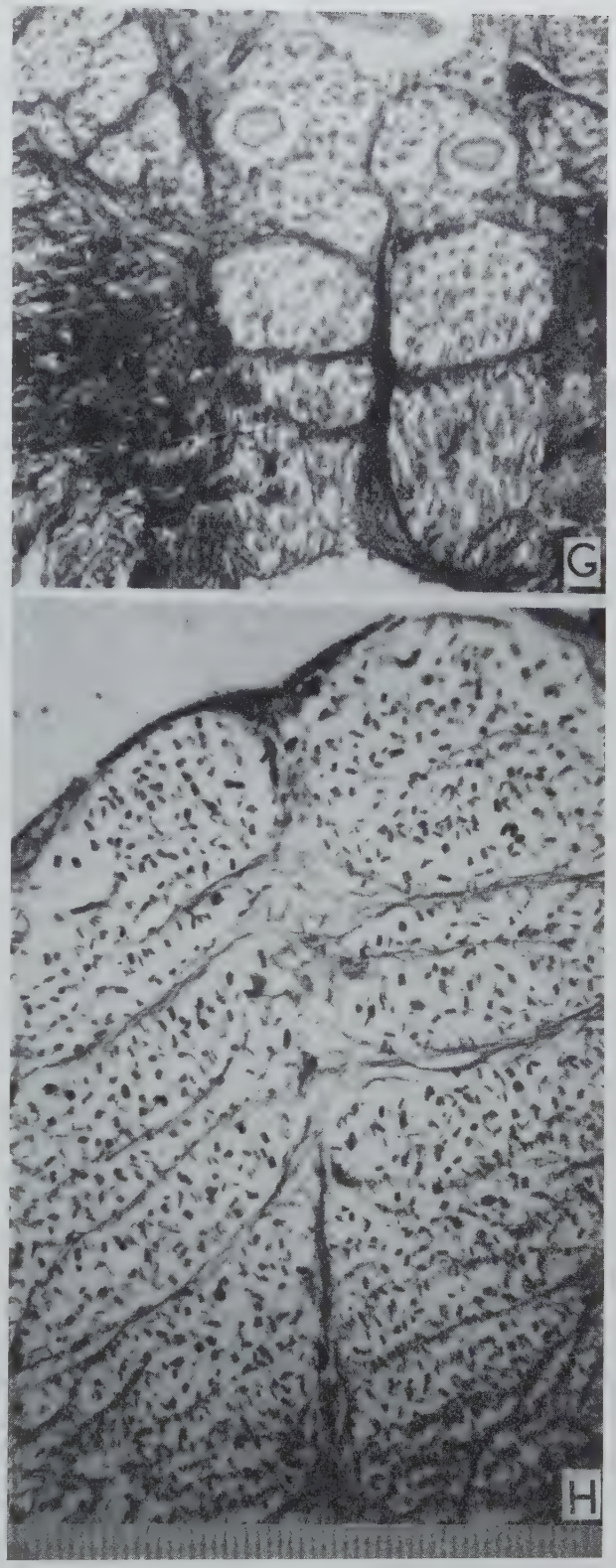


Fig. 3. Il fascicolo longitudinale mediale, allo stesso ingrandimento della figura precedente *B* e *C*: di *Cyprinus auratus* in *G* e di *Esox lucius* in *H*. Notare in *G* le due grosse fibre di MAUTHNER (ben più grosse della cellula di origine!); in *H* l'enorme sviluppo del fascicolo e la estrema riduzione delle fibre di MAUTHNER ridotte quasi alle dimensioni, delle altre fibre.

Ogni divisione della scala in calce 10 μ.

[1] G. BAFFONI e L. SERRA, Riv. Biol. *44*, 469 (1952).
[2] A. STEFANELLI, Rend. Accad. naz. Lincei (in stampa).

secondo dove le fibre di MAUTHNER sono ridottissime, in condizione di residuo, essendo le cellule già atrofizzate (fig. 2*C*). È evidente che nei forti nuotatori al sistema bineuronale di MAUTHNER si sostituisce un sistema più complesso, formato da numerosi neuroni tegmentali che contribuiscono con le loro fibre ad una notevole ipertrofia del fascicolo longitudinale mediale.

Discussione dei risultati

Da tutti questi risultati, anatomici, anatomo-comparativi, sperimentali e morfo-ecologici, mi sembra che si possano trarre delle soddisfacenti deduzioni sul significato morfologico e funzionale di questi peculiarissimi neuroni degli Ittiopsidi.

In primo luogo appare evidente la natura tegmentale delle cellule di MAUTHNER: ce lo dicono la condizione dei Petromizonti, quella dei Teleostei anguilliformi, dei Teleostei con coda non adatta al nuoto o sedentari, quella delle larve dei Bufonidi. Questo fatto pone già tali elementi tra quelli deputati alla coordinazione motoria. Le connessioni indicano chiaramente il meccanismo di tale coordinazione: da un lato la connessione predominante con il sistema della linea laterale (l'esistenza di tale apparato è indispensabile per lo sviluppo di questi elementi), dall'altro la connessione sinaptica dell'assone con i neuriti delle cellule radicolari motorie del midollo spinale essenzialmente della coda (se non vi è coda adatta alla natazione non vi è apparato mauthneriano). I neuroni di MAUTHNER sono pertanto *essenzialmente* neuroni di connessione tra i centri laterali e i centri motori della coda o della natazione. Dico essenzialmente in quanto questi sono i centri la cui presenza condiziona le sviluppo dell'apparato mauthneriano, ma, come abbiamo visto, i rapporti della cellula sono molteplici e, nell'ordine, troviamo rapporti con il vestibolare, con l'acustico (connessione col *torus semicircularis*), con i centri visivi del tetto, con i centri tegmentali ed il fascicolo longitudinale mediale. L'apparato mauthneriano si può pertanto definire un «apparato del nuoto espletato con il movimento della coda». Esso partecipa a tale funzione sia nella normale natazione, sia per variazioni riflesse nella direzione di movimento. Porto un esempio esplicativo: un pesce in un acquario non urta mai, senza poterla vedere, la parete di vetro e così non urta, anche nella completa oscurità, contro gli ostacoli. Il meccanismo riflesso che entra in gioco può essere così concepito: l'animale si avvicina, ad esempio; obbliquamente contro la parete; crea una compressione del liquido che stimola più il sistema laterale di un lato e da quì la cellula di MAUTHNER del lato opposto, che a sua volta, imprimendo ai centri motori del lato opposto una maggiore attività, corregge la direzione dell'animale facendogli assumere una posizione normale rispetto all'ostacolo che viene così, in via riflessa, evitato. Così il nuoto rettilineo è mantenuto tale per il bilanciato eccitamento che i colpi di coda fanno esercitare sui sistemi laterali dei due lati.

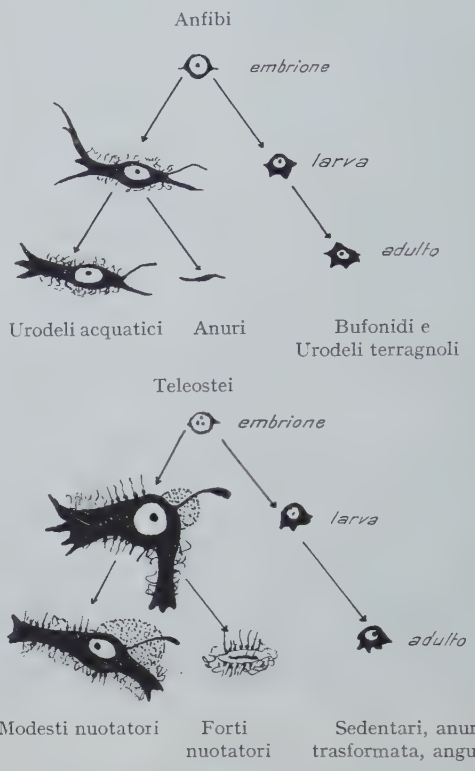


Fig. 4. Schema della citomorfosi dei neuroni di MAUTHNER in Anfibi e Teleostei con indicate le condizioni di atrofia negli adulti.

Un altra questione che risulta da queste ricerche morfo-ecologiche è che l'apparato di MAUTHNER deve essere considerato un'apparato eminentemente «larvale» (STEFANELLI[1]). Può rimanere nell'adulto in quelle particolari condizioni in cui l'attività natatoria non si modifica di molto dalla condizione della larva, come per esempio negli Urodeli acquatici e in molti pesci rivieraschi, ma, sia che le condizioni di nuoto cessino (Anuri) o si modifichino, sia diminuendo il valore della coda nella natazione, sia aumentando enormenente tale attività, essi reggrediscono, per lasciare, nell'ultimo caso, ad un apparato multineuronale vicariante la funzione che nella larva era a carico di un apparato bineuronale. Sono elementi «larvali» che possono essere considerati alla stessa stregua di altri neuroni che ormai da tutti sono considerati in questo senso, come ad esempio le cellule dorsali di RHOHN-BEARD, anche se, in particolari specie siano state descritte anche nell'adulto.

La particolarissima condizione di un apparato costituito da soli due neuroni, può essere spiegata considerando la condizione dello sviluppo degli Anfibi e dei Teleostei, dove, e specialmente in questi ultimi, precocissimamente incominciano i movimenti della coda e della natazione: precocissimamente questi neuroni,

[1] A. STEFANELLI, Rend. Accad. naz. Lincei (in stampa).

i primi di tutto il sistema nervoso, si differenziano. A sole 24 h dalla fecondazione già sono identificabili i due neuroblasti per le peculiari dimensioni del nucleo (STEFANELLI e BAFFONI[1]). Questi due neuroni coordinano i primi movimenti della larva e quindi, subendo un notevolissimo accrescimento, si adeguano alle necessità natatorie via via crescenti. E nelle forme in cui tali attività non superano certi limiti i neuroni di MAUTHNER si conservano e funzionano anche nell'adulto (come nella maggioranza dei pesci rivieraschi di mare e di acqua dolce, non dotati di particolare vivacità), mentre in quelle specie in cui si manifesta una notevole vivacità e una potenza di nuoto in relazione a particolari condizioni ecologiche (pesci d'alto mare, predatori,ecc.) i due elementi non sono più sufficienti, avendo le possibilità di accrescimento cellulare un limite, e vengono sostituiti gradualmente da nuovi numerosi elementi del sistema tegmentale, così che il fascicolo longitudinale mediale assume notevolissime dimensioni (fig. 3). Così, costruito un nuovo sistema plurineuronale, il sistema bineuronale larvale reggredisce. Il cospicuo affollamento dei sistemi sinaptici attorno alla cellula di MAUTHNER nei Teleostei adulti e specialmente in quelli in cui ad un certo stadio dell'accrescimento avviene l'involuzione, sta a dimostrate come, con le aumentate sinapsi, l'attività di questi neuroni venga «sfruttata» al massimo grado.

Certamente questa visione, così espressa, è semplicistica, e ben più complessi sono i fattori concomitanti che entrano in gioco, ma certamente il processo fondamentale che determina le particolari condizioni di citomorfosi dei neuroni di MAUTHNER, diverse anche in specie molto affini, va ricercato tenendo presente la natura tipicamente «larvale» dei neuroni di MAUTHNER.

Con la figura 4 sono schematicamente indicate le varie condizioni della citomorfosi del neurone di MAUTHNER negli Anfibi e nei Teleostei.

[1] A. STEFANELLI e G. BAFFONI, Rend. Accad. naz. Lincei *12*, 110 (1952).

Zusammenfassung

Die Übersicht fasst die bisherige Literatur und die eigenen Beobachtungen des Verfassers über die morphologische und physiologische Bedeutung der Mauthnerschen Neurone (Riesenzellen) bei den Ichthyopsiden (Fische und Amphibien) zusammen. Die strukturellen Unterschiede dieser Riesenzellen bei Teleostiern, Urodelen und Anurenlarven werden vor allem hinsichtlich der synaptischen Einrichtungen besprochen. Kurz dargestellte vergleichende Untersuchungen beweisen die Homologie dieser eigenartigen Neuronenpaare mit den Zellen des motorischen Tegmentums. Besonders charakteristisch sind die Verhältnisse bei den Petromyzonten und bei den aalförmigen Teleostiern, bei denen ein tegmentales Zellpaar existiert, welches sich nach seiner Lage als Mauthnersches Paar identifizieren lässt. Die Verhältnisse der Bufonidenlarven sind vom selben Charakter. Dasselbe gilt für die Anurenlarven, bei denen sich auch noch ein prämauthnersches tegmentales Zellpaar findet. Im Hinblick auf die Histogenese wird das besondere Verhalten des Zellkernes hervorgehoben, der sich im Neuroblast, vor der cytoplasmatischen Differenzierung, durch auffällige Grösse auszeichnet. Aufschlussreich für die funktionelle Bedeutung dieser Neuronen sind die morpho-ökologischen Beobachtungen. Es wird gezeigt, dass diese Zellen eine Verbindung zwischen den Zentren der Seitenlinienorgane und den motorischen Rückenmarkszentren des Schwanzes herstellen – und nicht des Rumpfes, wie von anderen Autoren behauptet worden ist. Es genügt tatsächlich, dass die hier aufgefundenen morpho-ökologischen Bedingungen zur Verkümmerung beider oder nur des einen der zwei Zentren führen, damit sich die Mauthnerschen Neurone nicht differenzieren können. Die Untersuchungen der Teleostier haben ausserdem dazugeführt, dass die Mauthnerschen Neurone ausschliesslich als larvale Organe betrachtet werden müssen. Sie erhalten sich adult nur in den Arten, welche die larvale Schwimmweise beibehalten haben (Urodelen und träge Schwimmer unter den Teleostiern). Die Atrophie der Mauthnerschen Neurone tritt nicht nur dann ein, wenn der Schwanz als Schwimmorgan wegfällt, sondern auch wenn die Schwimmaktivität gewisse Grenzen, wie bei den räuberischen Teleostiern der Hochsee, überschreitet, infolge der Differenzierung eines mächtigeren, vikariierenden Systems, welches mit dem Fasciculus longitudinalis medialis in Zusammenhang steht.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

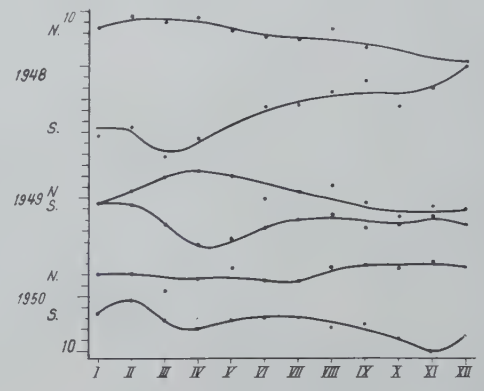
Der Einfluss der «Lorentz-Kontraktion» der Erde auf den Gang der Quarzuhren

In einer demnächst in den «Astronomischen Nachrichten» erscheinenden Abhandlung, betitelt: *Die beobachtete Gangschwankung der Quarzuhren und die «Lorentz-Kontraktion» der Erde*, habe ich nachweisen können, dass die bisher ausschliesslich als Jahresschwankung in der Rotationsdauer der Erde gedeutete, auf der Nordhemisphäre beobachtete jährliche Gangschwankung der Quarzuhren zu einem grossen Teile durch die «Lorentz-Kontraktion» der Erde in Form einer sterntäglichen Gangschwankung verursacht wird, ausserdem aber wohl auch durch die jährlichen Veränderungen in den meteorologischen Verhältnissen.

Ohne Mitteilung von theoretischen Einzelheiten soll nun hier, als Ergänzung zu meiner erwähnten Arbeit, speziell auf die besonders augenfällige Beweisführung eingegangen werden, die sich aus dem Gegensatz von an nördlichen und südlichen Stationen beobachteten Gangschwankungen ergibt und die ich damals nur andeutungsweise behandeln konnte, da mir erst später Beobachtungen von Quarzuhren auf der Südhalbkugel bekannt wurden. Unter bestimmten Annahmen über die Geschwindigkeit (600 km/s) und den Zielpunkt ($A = 5^h$, $D = +40°$) der grossen «absoluten» Translationsbewegung der Erde, die sich auf die positiven Resultate meiner vielen Bestimmungen dieser Bewegung stützen, und auf Grund von Vergleichungen zwischen Quarzuhren und Pendeluhren, die ein Parallelgehen der beiden Uhrentypen aufweisen, lässt sich eine theoretische Formel für die Gangschwankung der Quarzuhren aufstellen, die, abgesehen von einer kleineren Amplitude, dem Sinne nach völlig mit der beobachteten Schwankung des «Erdstandes» übereinstimmt: beide Schwankungen haben eine Doppelperiode von einem ganzen und einem halben Sterntag bzw. einem ganzen und einem halben Jahr, deren Entstehung allein durch meteorologische Einflüsse kaum zu erklären wäre.

Diese Gangformel nun enthält in ihrem Hauptglied, dem sterntäglichen bzw. jährlichen, den Faktor $\sin 2\varphi$, wo φ die Polhöhe des Beobachtungsortes bedeutet. Sie besagt also, dass die von der «Lorentz-Kontraktion» der Erde abhängige Gangschwankung am Äquator Null werden und an südlichen Beobachtungsstationen das umgekehrte Vorzeichen haben müsste als an nördlichen, das heisst ungefähr das Spiegelbild der Schwankung an Nordstationen wäre.

Dies ist aber tatsächlich der Fall, wie im folgenden an einigen Figuren gezeigt werden soll, die ausser Beobachtungsresultaten an Nordstationen auch die ersten bisher an Südstationen erhaltenen darstellen. Im «Bulletin Horaire» von 1948 bis 1950 des «Bureau International de l'Heure» (Paris) sind u.a. die Mittel der täglichen relativen Uhrkorrektionen der Quarzuhren jeder einzelnen Beobachtungsstation wiedergegeben, bezogen auf das Gesamtmittel der Uhrkorrektionen selbst von meist 12 nördlichen und 2 südlichen Stationen, wobei eine negative Uhrkorrektion gleichbedeutend ist mit dem, was bis jetzt als (positiver) «Erdstand» bezeichnet wurde. Von diesen relativen Uhrkorrektionen habe ich in mehreren geeignet erscheinenden Beispielen Monatsmittel gebildet, und zwar 1948 für die Nordstation Greenwich und für die damals noch einzige Südstation Buenos Aires, 1949 für Potsdam und für Buenos Aires und Mount Stromlo (Australien), 1950 ebenfalls für Potsdam, Buenos Aires und Mount Stromlo.



Graphische Ausgleichung der Monatsmittel (N. = Nordstation, S. = Südstation).

Diese in der folgenden Tabelle enthaltenen Monatsmittel für die betreffende Nordstation und für die beiden Südstationen zusammen sind nun, graphisch ausgeglichen, einander in den hier beigegebenen Figuren gegenübergestellt, wobei zu bemerken ist, dass die Jahreskurven, auch abgesehen von Beobachtungsfehlern, naturgemäss in ihrer Form etwas veränderlich sein werden, da sowohl der durch die «Lorentz-Kontraktion» als auch der meteorologisch bedingte Teil der Gangschwankung von veränderlichen Faktoren (Zeitmomente der astronomischen Zeitbestimmungen bzw. meteorologischer Zustand der Erde) abhängt.

Monatsmittel der relativen Uhrkorrektionen ($0^s{,}001$)

(G = Greenwich, P = Potsdam, BA = Buenos Aires, MS = Mount Stromlo)

Monat (Mitte)	1948		1949		1950	
	G	BA	P	$\frac{BA+MS}{2}$	P	$\frac{BA+MS}{2}$
Januar	+26	(−52)	− 4	− 5	+10	− 6
Februar	+34	−45	+ 6	− 5	+10	+ 6
März	+29	−73	+18	−24	− 5	−12
April	+33	−56	+23	−45	+ 6	−18
Mai	+21	−44	+19	−38	+16	−11
Juni	+15	−27	− 1	−29	+ 5	− 9
Juli	+13	−28	+ 6	−22	+ 4	−10
August	+22	−14	+10	−17	+16	−19
September	+ 4	− 5	− 5	−28	+18	−13
Oktober	+ 3	−28	−19	−24	+15	−28
November	− 5	−12	− 9	−19	+19	−40
Dezember	− 9	+ 9	−12	−27	+17	−26

Unter Berücksichtigung dieses Umstandes erkennt man aus den Figuren ohne weiteres, dass durchweg die Jahreskurve der Uhrkorrektionen an den Südstationen sich zu derjenigen an der Nordstation spiegelbildlich verhält, und zwar im richtigen Sinne, insofern als die relative Schwankung auf der Südhalbkugel negatives Vorzeichen hat. Es entspricht auch die vorläufige Amplitudensumme der beiderseitig beobachteten Schwankungen mit durchschnittlich etwa $0^s,08$ völlig genügend der theoretischen von rund $0^s,10$, wenn die obengenannte Translationsgeschwindigkeit der Erde von v = 600 km/s angenommen wird.

Mit diesen Feststellungen ist aber die Wirkung der «Lorentz-Kontraktion» der Erde auf den Gang von Quarzuhren klar bewiesen, und es kann daher ihre Existenz selbst, die ich seit mehr als dreissig Jahren auch ganz allgemein behaupte, nicht mehr zweifelhaft sein.

L. Courvoisier

Riehen bei Basel, den 2. Mai 1953.

Summary

The author maintains that a great part of the observed yearly variation in the rate of Quarz-clocks is caused by the «Lorentz-contraction» of the earth and that in this case the yearly curves of the clock-corrections at southern stations must agree with the reflexes of those on northern stations. The fact of this phenomenon is demonstrated by some figures, and the existence of the «Lorentz-contraction» is thus proved.

Höhenstrahlungen mit Photoplatten gelegentlich der schweizerischen Himalajaexpedition 1952

Die Sternhäufigkeiten in Photoplatten sind bisher vorwiegend in Höhen unter 5000 m und durch Ballonaufstiege in Höhen oberhalb 25000 m gemessen worden.

Die schweizerische Himalajaexpedition 1952 bot die Gelegenheit, wenigstens einen qualitativen Versuch zu unternehmen, die Intensität der Nukleonenkomponente in den sonst schwer zugänglichen Höhenlagen von 5000 bis 8000 m zu untersuchen. Mehr als eine ungefähre Information qualitativer Art war bei der Langwierigkeit des Anstieges und der Unmöglichkeit, die Platten in grosser Höhe zu entwickeln, nicht zu erwarten, zumal sich aus technischen Gründen nicht vermeiden liess, dass die Zeit vom Guss der Platten bis zur Expedition wesentlich grösser war, als für solche Experimente nützlich ist.

Im folgenden wird der Erwartungswert der Sternintensität mit dem beobachteten verglichen:

Der Erwartungswert wird durch das Integral definiert

$$N = \int_{\text{5. August 1952}}^{\text{1. Januar 1953}} n \, dt$$

Gussdatum der Platten: 5. August 1952.

Verbringung der Platten in rund 20 m unter die Erde bis zur Entwicklung: 1. Januar 1953

wobei $n = n\,[H_{(t)}\varphi_{(t)}]$;
n = Anzahl Sterne je Tag;
H = Höhe über Meer;
φ = geomagnetische Breite.

Das Himalajagebiet liegt in einer geomagnetischen Breite von 18°. Da für 18° keine Höhenintensitätsverteilung vorliegt, wurde mit derjenigen von Roederer[1] für 21° geomagnetischer Breite gerechnet, was jedoch nur unbedeutende Differenzen ergibt, da in diesen Breiten nach Messungen von Simpson und Uretz[1] (10000 m Höhe) die Sternintensität sehr wenig schwankt. Für die Zeit vor und nach der Expedition wurde die Intensitätsverteilung von Teucher[2] für 48° geomagnetischer Breite (Mitteleuropa) zugrundegelegt. Der Erwartungswert dieser Zeitabschnitte beträgt jedoch nur etwa ½% des gesamten Erwartungsintegrals.

Mit dieser Berechnung wurde eine zu erwartende Sternzahl $N = 2480\ \text{cm}^{-3}$ gefunden, was für die durchmusterten $0{,}12\ \text{cm}^3$ 298 Sterne ergibt. Als Sterne gelten hier solche, die mindestens 3 Äste aufweisen, von welchen mindestens ein Ast länger als 60 μ ist.

Tatsächlich gefunden wurden 204 ± 14 Sterne. Durchmustert wurde von 2 verschiedenen Beobachterinnen je $0{,}06\ \text{cm}^3$, wobei 107 und 97 Sterne gefunden werden.

Berücksichtigt man den Verlust an Sternen durch Fading, der sich am stärksten bei den kleinen Sternen bemerkbar machen wird, etwa solchen, bei denen 2 schwarze und eine graue Spur auftreten, und einen Verlust bei der Durchmusterung, der in der Grössenordnung von 10 bis 20% liegen kann, so ist die Übereinstimmung zwischen der tatsächlich gefundenen und der von Röderer angegebenen Häufigkeitskurve durchaus befriedigend. Da die Platten lange gelagert wurden, weisen sie sehr viele Spuren langsamer Elektronen auf, die eine genauere Durchmusterung erschweren.

Der Beitrag der in einer Höhe über 4000 m erzeugten Sterne zum Erwartungsintegral beträgt 87%. Zusammenfassend lässt sich also aus dem vorliegenden Versuch nur sagen, dass die Sternhäufigkeit auch zwischen 4000 und 8000 m Höhe keine wesentliche Abweichung von der von Teucher und Roederer gegebenen Höhenabhängigkeit zeigt.

Eine Verbesserung der Statistik durch Durchmusterung eines grösseren Emulsionsvolumens schien angesichts der durch das Fading gegebenen Fehlergrenzen nicht lohnend. Hingegen wäre es von grosser Bedeutung, bei künftigen Versuchen mit Expositionen in Höhenlagen von 6000 bis 8000 m mit möglichst kurzen Aufenthalten in anderen Höhen die Grössenverteilung der Sterne und damit die Statistik für diese sonst sehr schwer zugänglichen Höhenlagen zu untersuchen.

An dieser Stelle möchten wir insbesondere dem Leiter der Expedition, Herrn Dr. Chevalier, und den Teilnehmern, welche das Plattenmaterial mit grosser Sorgfalt und Umsicht transpotierten, den allerbesten Dank aussprechen. Es ist erfreulich, festzustellen, dass, ungeachtet aller Schwierigkeiten bei der Durchführung dieser Expedition, deren Leitung unseren wissenschaftlichen Problemen soviel Verständnis entgegengebracht hat.

Den Herren Prof. Dr. Houtermans und Dr. Teucher danken wir für ihr grosses Interesse und anregende Diskussionen.

Die Photoplatten wurden im Physikalischen Institut der Universität Bern entwickelt und durchmustert. Dafür danken wir besonders Frau L. Müller und Frau E. Hintermann.

A. Eugster und K. Hintermann

Physikalisches Institut der Universität Bern, den 4. Mai 1953.

Summary

On the occasion of the Swiss expedition to the Himalaya mountains, Ilford G 5- Nuclear Emulsion plates were brought up to an altitude of 8.000 m in order to measure the intensity of the nuclear component of cosmic rays. The number of stars obtained agree within the limits of error with other measurements at altitudes up to 5.000 m and above 25.000 m.

[1] J. Roederer, Z. Naturforsch. *7*, 765 (1952).

[1] J. A. Simpson, jr., und R. B. Uretz, Physical Rev. *76*, 569 (1949).

[2] M. Teucher, Z. Naturforsch. *7*, 62 (1951).

Austauschreaktion und Szilard-Chalmers-Effekt an Kobalt- und Kupferhexacyanokobaltat (III)

Kobalt-(II)-und Kupfer-(II)-Hexacyanokobaltat (III) besitzen ein kubisches Raumgitter[1], das aus Me^{2+} und $Co(CN)_6^{3-}$ aufgebaut ist ($Me^{2+} = Co^{2+}$ bzw. Cu^{2+}). Der Netzebenenabstand beträgt rund 10 Å[2]. Es handelt sich also um ein Gitter mit beträchtlichen Hohlräumen. Das Gitter trägt je Formeleinheit eine negative Überschussladung $[Me^{II}Co^{III}(CN)_6]^{1-}$. Die Ladung dieses «Hauptgitters» wird durch zusätzliche Kationen kompensiert, die in die Hohlräume bzw. in das «Zwischengitter» eintreten: $Co^{II}[Co^{II}Co^{III}(CN)_6]_2$ (*A*) und $Cu^{II}[Cu^{II}Co^{III}(CN)_6]_2$ (*B*).

In analoger Weise wie beim Kobalthexacyanoferrat (II)[3] wurde auch bei Aufschlämmungen von *A* und *B* festgestellt, dass die Kationen im Zwischengitter bei Zimmertemperatur innert rund 60 min gegen Co^{2+} bzw. Cu^{2+} in der Lösung austauschbar sind. Die rasche Austauschreaktion wird durch eine langsame abgelöst, bei der ein Austausch mit dem Hauptgitter stattfindet, wobei die Kationen im Hauptgitter nur zum Teil an der Reaktion teilnehmen. Dass die Kationen im Hauptgitter nicht gleichartig gebunden sind, ist aus Versuchen an Eisenhexacyanoferraten[4] zu schliessen. Dies wurde durch Austauschversuche mit verschieden markiertem *A* auch für feste Hexacyanokobaltate gefunden. Einerseits wurde ein Präparat hergestellt aus inaktivem $Co(CN_6]^{3-}$ und aus radioaktivem Co^{*2+}, das mit ^{60}Co markiert worden war: $Co^*[Co^*Co(CN)_6]_2$ (A_2^*). Andererseits wurde radioaktives $[Co^*(CN)_6]^{3-}$ mit inaktivem Co^{2+} zu $Co[CoCo^*(CN)_6]_2$ (A_3^*) umgesetzt. Diese Verbindungen wurden in Lösungen mit inaktivem Co^{2+} aufgeschlämmt und die Aktivitätszunahme in der Lösung zeitlich verfolgt. In einem umgekehrten Versuch wurde inaktives *A* mit einer Lösung von radioaktivem Kobalt umgesetzt und die Aktivitätsabnahme der Lösung gemessen. Die Resultate sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Die Zahlenwerte in Tabelle I zeigen, dass bei der Verbindung A_2^* nach dem raschen Austausch mit dem Zwischengitter, der nach 60 min bereits vollständig ist, auch ein langsamer Austausch mit dem Hauptgitter erfolgt. Dass sich dabei nur die nicht komplex gebundenen Ionen beteiligen, ergibt sich aus Versuchen mit der Verbindung A_3^*. Hier ist auch nach 50 Tagen kein nennenswerter Austausch festzustellen. Dieser Befund steht im Einklang mit Versuchen, an gelöstem $Co(CN)_6^{3-}$ [1].

Zur Herstellung von trägerarmem ^{60}Co mit Hilfe der Reaktion $^{59}Co(n, \gamma)^{60}Co$ wurde getrocknetes *B* in Harwell eine Woche der Neutronenbestrahlung ausgesetzt. Dabei ist zu erwarten, dass ein Teil des gebildeten ^{60}Co infolge des bei der Kernreaktion erlittenen Rückstosses sich im Zwischengitter ansammelt, von wo es durch Austausch herausgeholt werden kann. Wegen der leichten Trennbarkeit von Kupfer und Kobalt wurde zu diesem Zwecke die Verbindung *B* benützt. Zu ihrer Präparation wurde das Tetramethylammoniumsalz des $Co(CN)_6^{3-}$ verwendet, um die Verunreinigung von *B* durch Kalium[2] auszuschliessen. Kobalt ist nur in komplex gebundener Form vorhanden. Nach der Bestrahlung wurde einerseits die Aktivität von *B* nach Aufschluss mit H_2SO_4 gemessen. Andererseits wurde das austauschbare ^{60}Co durch Aufschlämmen von *B* in 0,1 *n* $Cu(NO)_3$, das mehrmals erneuert wurde, herausgeholt und elektrolytisch vom Cu abgetrennt. Das Gewicht des ausgetauschten ^{60}Co war auf der Elektrode nicht festzustellen, dagegen war seine Abscheidung an Hand der Aktivität zu verfolgen. Nach Ablösen mit HCl wurde versucht, das Kobalt mit Dithizon nachzuweisen. In Kontrollversuchen waren 0,01 γ Co noch deutlich gegen die Blindprobe sichtbar, der Versuch mit der aktiven Lösung war dagegen völlig negativ. Die gemessenen Aktivitäten sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II

	Gemessene Aktivität	% Anteil ^{60}Co
$Cu[CuCo^*(CN)_6]_2$ vor Austausch . .	380 000	100
$Cu[CuCo^*(CN)_6]_2$ nach Austausch .	165 000	42,8
^{60}Co abgetrennt	220 400	57,2

Daraus ergibt sich, dass rund 60% des aktiven ^{60}Co in unwägbarer Form abgetrennt werden können. Das Gewicht ist kleiner als 0,01 γ. Die Anreicherung des ^{60}Co ist somit grösser als 10^6fach.

Wie aus diesem Versuch hervorgeht, weisen Festkörperverbindungen mit ungeordneten Gitterbezirken insofern Vorteile gegenüber gutkristallisierten Verbindun-

[1] M. A. Rollier und E. Arreghini, Gaz. Chim. Ital. *69*, 499 (1939).

[2] M. A. Rollier und E. Arreghini, Gaz. Chim. Ital. *69*, 499 (1939). – W. Feitknecht und K. Michel, unveröffentlichte Arbeit.

[3] W. Buser, W. Feitknecht und U. Imobersteg, Helv. physica Acta *25*, 619 (1952).

[4] S. Ruben, G. Seaborg und J. Kennedy, J. Applied Phys. *12*, 308 (1941). – R. Thompson, J. Am. Chem. Soc. *70*, 1045 (1948).

[1] J. Flagg, J. Am. Chem. Soc. *63*, 557 (1941).

[2] W. D. Treadwell und D. Chervet, Helv. chim. Acta *5*, 633 (1922); *6*, 550 (1923). – Diss. H. U. Kubli, ETH. Zürich (1925).

Tabelle I

	$A + Co^{*2+}$			$A_2^* + Co^{2+}$			$A_3^* + Co^{2+}$		
	z	% gefunden	berechnet[1]	z	% gefunden	berechnet[2]	z	% gefunden	berechnet[1]
Anfangsaktivität	812 000 (Lösung)		100	124 000 (A_2^*)		100	166 000 (A_3^*)		100
Aktivität der Lösung nach 1 Stunde	617 700	76,2	75	30 300	24,2	25	1 300	< 1	50
nach 24 Stunden				34 900	28,1				
nach 50 Tagen							1 160	< 1	

z = Zerfälle pro Minute. [1] Berechnet für Austausch zwischen Lösung und Zwischengitter. [2] Berechnet für vollständigen Austausch.

gen auf, als die bei Kernreaktionen aus dem Hauptgitter herausgeworfenen radioaktiven Isotope auch aus dem Innern der Festkörperverbindungen weitgehend herausgeholt werden können.

Es werden hier ähnliche Verhältnisse gefunden, wie sie JORDAN[1] bei der Isolierung von ^{28}Al aus Infusorienerde angetroffen hatte. Bei Ausführung der Reaktion ^{28}Si (n, p) ^{28}Al an diesem ausserordentlich porösen Material konnte er etwa 60% des aktiven Al mit Aluminiumlösung extrahieren.

Wir verdanken die Mittel zur Ausführung dieser Arbeit der Schweizerischen Studienkommission für Atomenergie.

W. BUSER und U. IMOBERSTEG

Institut für anorganische, analytische und physikalische Chemie der Universität Bern, den 11. April 1953.

Summary

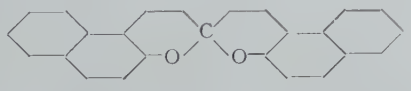
Exchange experiments at room temperature with differently labelled Co^{II} $[Co^{II}Co^{III}(CN)_6]_2$ (the difference in labelling depends upon which Co is made radio-active) indicate that Co is bound in three different ways. The amount of exchange of Co^{III} in the complex was negligible. The Co^{II} statistically occupying the holes in the main cubic lattice (Zwischengitter) exchanges quickly and completely, while the remaining Co^{II} participates slowly in exchange reactions.

Due to the SZILARD-CHALMERS effect, ^{60}Co accumulated in the holes of the main cubic lattice of $Cu^{II}[Cu^{II}Co^{III}(CN)_6]_2$ which had been exposed to neutron bombardment. This ^{60}Co was removed from the interior of the solid compound by exchange with Cu^{2+} and electrolytically separated. The enrichment was greater than 10^6, and approximately 60% of the ^{60}Co could be extracted.

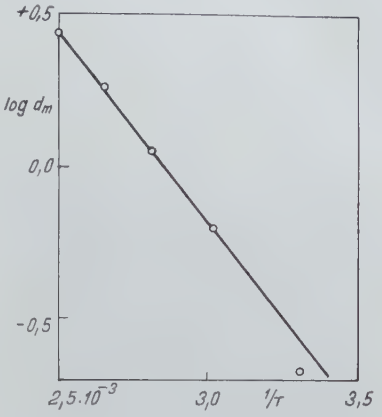
[1] Diss. P. JORDAN, ETH. Zürich (1951).

The Thermochromism of Di-β-naphthospiropyran

In order to make systematical investigations of light absorption by thermochromic substances depending on temperature, a HILGER SPEKKER equipment was completed with a bronze block acting as a constant temperature bath. This block contains the two tubes for the solution and for the solvent and is placed in the path of the parallel beams. It is heated and controlled electrically. The temperature can be increased from room conditions up to 130°C.



As a first representative of a series of spiropyrans[1] di-β-naphthospiropyran in phenetole was investigated. Owing to the changes in absorption, high concentration was applied at low temperatures and a lower one at higher temperatures. Spectra have been taken at approximately 29, 58, 82, 105 and 127°C and show one thermochromic absorption band in the green. Plotting the logarithms of the maximum densities against the reciprocal of the absolute temperature, one obtains a fair straight line. The discrepancy at room temperature may



result from the more moderate accuracy due to the very low absorption. Supposing, as usual, the effect to consist of the thermal conversion of non-absorbing molecules to absorbing ones, we can use the slope of this straight line to find the activation energy Q of this conversion:

$$Q = \frac{\log d_{m2} - \log d_{m1}}{1/T_1 - 1/T_2} \cdot \frac{R}{\log e}.$$

The result is 5·80 kilocalories. These investigations will be continued and details will be published later on.

A. W. REITZ and T. KALAFAWY

Faculty of Science, Fouad I University, Cairo, July 15, 1952.

Zusammenfassung

Als erstes Beispiel systematischer quantitativer Untersuchungen zur Thermochromie organischer Substanzen wurde Di-β-naphthospiropyran spektroskopiert und die Aktivierungsenergie der Umwandlung in die absorbierende Form zu 5,80 kcal/mol bestimmt.

[1] Concerning chemistry of spiropyrans and further references see A. MUSTAFA, Chem. Rev. *43*, 509 (1948), and R. WIZINGER and H. WENNING, Helv. chim. Acta *23*, 247 (1940).

Contribution à l'étude des équivalents des mitochondries dans les bactéries

MUDD *et al.*[1] ont décrit ce qu'ils appellent les mitochondries bactériennes qu'ils ont mises en évidence par différentes méthodes de coloration. Au Congrès international de Microscopie électronique, Paris 1950, – dont les comptes rendus n'ont pas encore paru – nous avons présenté une méthode qui permet de voir ces structures au microscope électronique; nous les avions appelées alors «corps métaboliques». Ces corps se colorent au tétrazol et diffèrent des nucléoïdes. Nous pensons que les résultats obtenus grâce à cette méthode n'ont pas perdu de leur actualité et complètent ceux de MUDD *et al.* Par analogie avec le terme de *nucléoïde* – équivalent de noyau, nous proposons le terme de *chondrioïde* – équivalent de mitochondrie.

Pour l'examen au microscope électronique, la méthode de réplique sur frottis nous a permis de constater –

[1] S. MUDD, A. F. BRODIE, L. C. WINTERSCHEID, P. E. HARTMANN, E. H. BEUTNER et R. A. MC LEAN, J. Bact. *62*, 729 (1951). – S. MUDD, L. C. WINTERSCHEID, E. D. DELAMATER et J. HENDERSON, J. Bact. *62*, 459 (1951). – L. C. WINTERSCHEID et S. MUDD, Amer. Rev. Tuberculosis *67*, 59 (1953).

presque toujours chez *Echerichia coli*, souche B, et souvent chez *Bacillus cereus*, souche Caron – la présence d'une ou de plusieurs (le plus souvent deux) masses globulaires dans chaque cellule. En étudiant les conditions favorables à l'apparition de ce phénomène, nous avons établi la méthode suivante qui donne une bonne révélation pour *E. coli* B et *B. cereus*:

1° On étale sur une lame de verre 0,05 cm^3 d'une suspension bactérienne en milieu nutritif (bouillon ou milieu synthétique) ou en solution tampon.

Fig. 1. *B. cereus*. Après séchage rapide.

2° On laisse sécher à l'air à une température de 15° à 25° C. Ce séchage lent ne doit pas se prolonger au-delà de 2 à 3 h.

3° On ajoute de l'eau distillée (environ 0,05 cm^3) et on répète le séchage lent. Il est avantageux d'y ajouter du tétroxyde d'osmium jusqu'à l'obtention d'une solution de 2%.

4° On déshydrate complètement sous vide à 60°, puis on lave brièvement à l'eau distillée; on sèche le frottis et on confectionne la réplique au moyen du procédé celluloïd-silice[1].

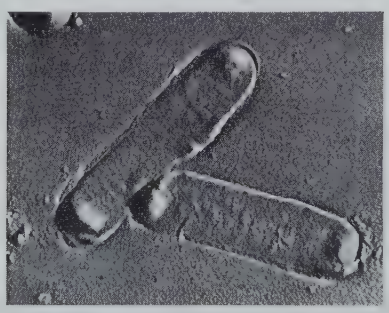
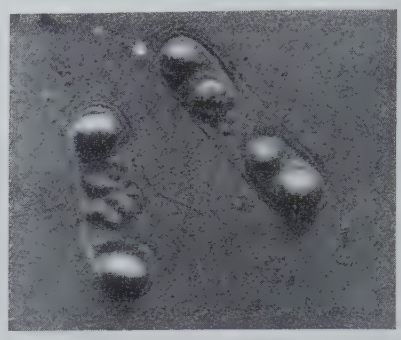


Fig. 2. *B. cereus*. Révélation des chondrioïdes par la méthode de séchage lent.

Si l'adhérence des cellules au celluloïd est trop grande, on peut dissoudre celles-ci dans une solution de papaïne à 1% qu'on laisse agir pendant 12 h environ.

L'importance du séchage lent pour la révélation des chondrioïdes est mise en évidence par la comparaison des Figures 1 et 2: La première montre une réplique de *B. cereus* séché sous vide immédiatement après l'étalement. La cellule est uniformement remplie de matière et les masses globulaires ne sont pas visibles. La Figure 2 montre des bacilles de la même culture mais après un séchage lent: La cellule apparaît plate avec, aux pôles, des chondrioïdes saillants. Les conditions de séchage étant peu constantes et difficilement contrôlables, il en résulte des variations dans la dimension des chondrioïdes, mais leur emplacement reste inchangé. Par ailleurs, l'augmentation de la concentration saline qu'entraîne le séchage du milieu produit certainement deux effets: le premier consiste à déranger l'équilibre physiologique de la cellule vivante encore. Il est plus ou moins marqué suivant la durée du premier séchage lent. Le deuxième est d'ordre purement chimique, c'est une extraction sur la cellule morte. A titre d'exemple, les Figures 3 et 4 montrent des divisions cellulaires que cette influence physiologique a dérangées.



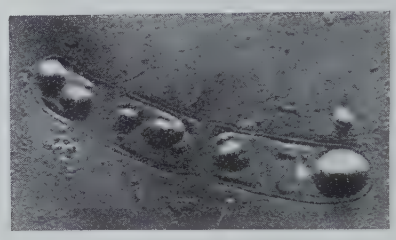


Fig. 3 et 4. *B. cereus*. Divisions cellulaires, méthode de séchage lent.

Comparons ces résultats avec ceux que donnent les méthodes de coloration. La coloration vitale des lieux de réduction par le tétrazol Bayer[1], méthode introduite en bactériologie par Bielig, Kausche et Haardick[2] se fait aux endroits occupés par nos masses globulaires. Il se forme des globules réfringents, composés de formazan, dont la couleur peut varier du jaune au rouge et qui sont plus petits que nos masses observées aux microscope électronique. Le formazan reste en place si l'on procède au séchage lent après la coloration vitale; si nous observons une telle préparation au microscope à contraste de phase, nous pouvons voir à la fois nos masses globulaires et le dépôt de formazan. On peut affirmer que les endroits de réduction sont situés dans ces masses.

La réduction du tétrazol et la coloration au vert Janus[3] sont des réactions spécifiques des mitochondries des cellules tissulaires. On sait également que lors d'extractions à l'aide de solutions concentrées de KCl, les mitochondries des cellules hépatiques restent intactes[4]. Or notre méthode de séchage lent dans le milieu de culture comprend une augmentation graduelle de la concentration saline qui entraîne à son tour une extraction sélective de substance tout en laissant les chondrioïdes

[1] E. Kellenberger, Exper. *4*, 449 (1948). – E. Kellenberger et P. Dinichert, Exper. *4*, 407 (1948).

[1] Nous remercions la maison Bayer de nous avoir gracieusement fourni le tétrazol.

[2] H. G. Bielig, G. A. Kausche et H. Harrdick, Z. Naturforsch. *46*, 80 (1949).

[3] O. Graffi, Diskussionsbemerkung zu G. Piekarski, *Die Zellkernäquivalente der Bakterie*, Coll. dtsch. Ges. physiol. Chem. *1951*, 100. – S. Mudd, A. F. Brodie, L. C. Winterscheid, P. E. Hartmann, E. H. Beutner et R. A. Mc Lean, J. Bact. *62*, 729 (1951).

[4] E. D. P. de Robertis, *General Cytology* (Saunders, Philadelphia 1949), p. 93.

intacts. Dans ce sens, nos observations sont un argument supplémentaire en faveur d'une équivalence de ces structures avec les mitochondries. Sans les identifier avec les mitochondries tissulaires, dont l'organisation est très compliquée, nous désirons rappeler ces analogies en proposant le terme de *chondrioïdes*.

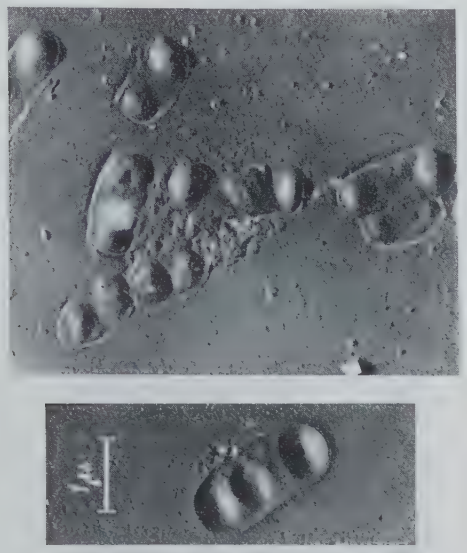


Fig. 5 et 6. Répliques *Escherichia coli* B (en croissance exponentielle): Révélation des chondrioïdes par la méthode de séchage lent.

Les *nucléoïdes*, colorés par la méthode hydrolyse-Giemsa de PIEKARSKI-ROBINOW[1] consécutive à un séchage lent, sont nettement disposés «entre» les chondrioïdes, soit plus près du centre de la cellule; ils ne sont donc nullement superposables aux chondrioïdes.

Nous remercions la «Fondation Fritz Hoffmann-La Roche pour l'expansion en Suisse du travail scientifique exécuté par équipe» pour l'aide généreuse qu'elle nous a apportée.

E. KELLENBERGER et LUCIE HUBER

Institut de physique, Université de Genève, le 6 mai 1953.

Summary

When slowly dried up in their culture medium, bacteria show chondrioids (equivalents of mitochondria) which are entirely different from the nucleoïds (equivalents of nuclei). Observations are made in the electron microscope by means of the replica technique, or directly with the phase contrast microscope. The chondrioids contain the Formazan deposited by vital reduction of Tetrazol.

[1] C. G. ROBINOW, Addendum de DUBOS, *The bacterial Cell* (Harvard University Press, Cambridge, Mass., 1949).

Observations on the Fixation *in vitro* of Uranium to Sections of Bone

Evidence that a great part of the uranium injected into the living animal is readily deposited in bone tissue has been supplied by W. F. NEUMAN *et al.*[1]. The same authors have analysed *in vitro* the interaction between bone minerals and phosphate buffers containing radioactive P; they maintain that fixation of isotopes to bone tissue involves both an exchange reaction between cations of the solid and of the fluid phase and a process of recrystallisation.

The results of an autoradiographic study of ground sections of bone treated *in vitro* with radiocalcium and radiophosphorus have been reported in previous papers[1]. These experiments have consistently shown that a relatively greater amount of labelled Ca and P gets fixed *in vitro* (as well as *in vivo*[2]) to recently laid down, less calcified structures of bone in comparison with more calcified, older structures. The present paper is a preliminary report on the results of an autoradiographic study of the fixation of U to bone sections *in vitro*.

Technique. Ground sections (from 30 to 45 μ in thickness) of compact bone were treated with a $1^0/_{00}$ solution of uranyl nitrate in a 0·025 N buffer of $NaHCO_3$. Whole fresh bone, bone fixed in 95° ethanol or formalin, and bone freed of its organic components were studied. After U treatment, the sections were washed for 2 or 3 days in frequently renewed distilled water, air dried at room temperature and tightly pressed in a photographic printing frame against the emulsion side of C_2 Ilford Nuclear Research plates, 50 μ of emulsion thickness.

A quantitative analysis of the U deposited in the various structures of the same section of bone was attempted by counting the *alpha* tracks in a sufficient number of microscopic fields. In order to compare the *alpha* activity of bone sections which underwent different treatments (see further on), a single large section of uniform thickness was divided into various sectors. Each sector was separately treated. All the sectors were then exposed together for the same length of time on the same autographic plate, and the *alpha* activity of *structurally corresponding regions* in the various sectors compared.

Quantitative historadiography (ENGSTRÖM) was applied to the bone sections prior to treatment with U, to estimate the degree of relative calcification of recently built and old structures[3].

Results. (1) The uptake of U for unit volume of section is from 30% to 100% greater in recently built primary or secondary bone than in old bone tissue. The degree of calcification in recently laid down structures resulted to be from 10% to 25% lower than in the neighbouring old bone tissue.

The *distribution* of U in bone seems, therefore, to be qualitatively identical to that previously described for Ca^{45}. However, the differential uptake in recent as compared to old bone tissue is much greater for radiocalcium than for U (Fig. 1 and 2).

(2) Removal of the organic components from bone ground substance increases the ability of bone tissue to fix U. The amount of U deposited in sections ashed at 600° to 700°C for 3 to 4 h is from 15% to 30% greater than in control sections of whole bone; 4 times greater than in whole bone in sections boiled for 24 h in distilled water[4]; from 6 to 8 times greater in sections treated with boiling glycol/K hydroxide (GABRIEL).

[1] M. W. NEUMAN and W. F. NEUMAN, J. biol. Chem. *175*, 711 (1948). – W. F. NEUMAN, M. W. NEUMAN, and B. J. MULRYAN, J. biol. Chem. *175*, 705 (1948). – W. F. NEUMAN and B. J. MULRYAN, J. biol. Chem. *185*, 705 (1950); *193*, 237 (1951).

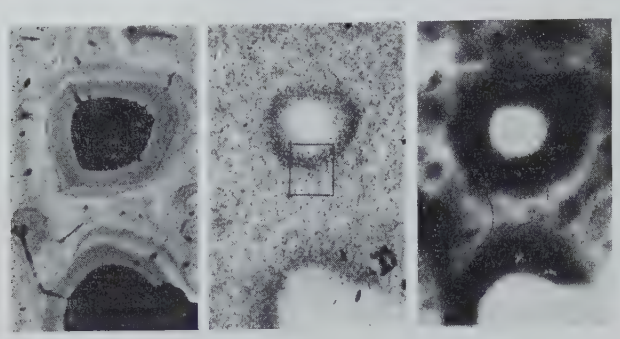
[1] R. AMPRINO, Exper. *8*, 20 and 380 (1952); Z. Zellforsch. *37*, 240 (1952).

[2] For the distribution of P *in vivo*, *cf.* B. ENGFELDT, A. ENGSTRÖM, and R. ZETTERSTRÖM, Bioch. Bioph. Acta *8*, 375 (1952).

[3] Technical details, *cf.* R. AMPRINO and A. ENGSTRÖM, Acta Anat. *15*, 1 (1952). – R. AMPRINO, Z. Zellforsch. *37*, 144 (1952).

[4] According to DALLEMAGNE *et al.* (Arch. intern. Physiol. *57*, 411 [1950]) this treatment removes from bone ground substance nearly all the organic components, a remarkable amount of minerals and a great part of the carbon dioxide.

The *distribution* of U is uniform throughout the sections freed of organic components; thereby showing that in these conditions the same amount of U for unit volume of tissue is fixed both to old and recently built structures.



A *B* *C*

Fig.1.—Ox, 3 years. The same area of compact bone from the diaphysis of the right metatarsus. *A*, negative historadiograph; *B*, autoradiograph after U treatment; *C*, autoradiograph after Ca^{45}·22:1.

(3) The rate of depositions of U is high within the first hour of treatment of the section, then it decreases. No further fixation of U seems to occur after 10 to 12 h treatment. Comparable results were obtained both with whole bone and bone freed of its organic components.

(4) U replaces the Ca^{45} previously fixed to bone ground substance. The decrease of *beta* activity of Ca^{45} is clearly

Fig. 2.—Higher magnification of the area indicated in Figure 1 *B*. 225:1.

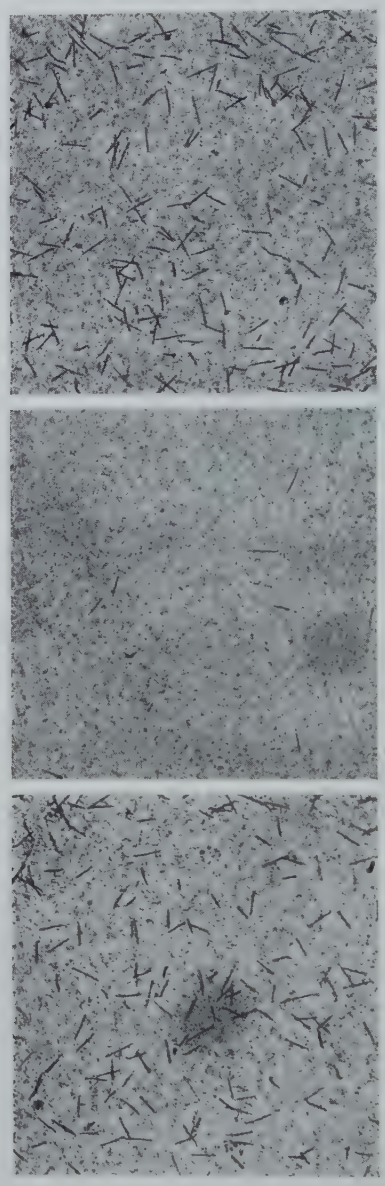
detectable after 1 h treatment with U $1^0/_{00}$ and becomes much more apparent after 6 h treatment. It seems, however, that U cannot replace all the Ca^{45} previously fixed to a section of whole bone, even after a long treatment with frequently renewed solutions of U.

No change in the *relative distribution* of Ca^{45} in the various structures of bone after prolonged treatment with U has ever been detected.

(5) Concurrent fixation of both Ca^{45} and U takes place in sections treated with a solution of the two cations. The uptake of both elements is relatively greater in recently formed structures than in old bone tissue.

Whenever sections of whole bone are treated first with radiocalcium and then with U *and* Ca^{45}, both a further fixation of Ca^{45} and an easily detectable fixation of U are demonstrated.

(6) Sections of whole bone treated with U can still fix a remarkable amount of Ca^{45} (Fig. 1 *C*). The uptake of the latter is relatively greater in recently formed structures. It must be stressed that the greater part of radiocalcium which is deposited in these conditions does not replace the U. In fact, no significant decrease of the number of *alpha* tracks per unit volume of tissue takes place after treatment with $CaCl_2$ (Fig. 3, *A*, *C*).



A

B

C

Fig. 3.—Calf, 10 months. Metacarpus. Autoradiographs of structurally corresponding (e.g. old primary bone) regions of three successive sectors of the same section treated with U. Sectors *B* and *C* kept per 6 h in $NaHCO_3$ and respectively in $CaCl_2$ 0·025 N after U treatment; *A*, control sector.

On the other hand, in bone sections freed of organic components, the treatment with $CaCl_2$ determines a reduction of more than 30 % of the previously fixed U.

(7) Nearly 90 % of the U deposited in sections of whole bone can be readily removed by treatment with a 0·025 N solution of $NaHCO_3$ (Fig. 3, *A*, *B*) or Na_2CO_3.

No detectable removal of previously fixed radiocalcium occurs after treatment with $NaHCO_3$ or Na_2CO_3.

No removal of U occurs when sections are treated with 0·025 N solutions of sodium chloride or sodium phosphate.

(8) Nearly all (e.g., from 95% to 98%) the U fixed to sections of whole bone can be removed by glycol-ashing or microincineration at 700°C. About 70% of the U fixed to previously glycol-ashed sections can be removed by further glycol-ashing.

(9) The U is removed almost entirely from sections of whole bone by decalcification with HNO_3 1:1,000.

(10) A remarkable amount of U gets fixed to decalcified sections of bone, e.g., from 60% to 80% of the U which is bound to notdecalcified control sections. The distribution of U is uniform in recent and old structures in decalcified bone. The greater part of the U thus fixed can be removed by the use of HNO_3 (1:1,000 × 20′)

Fixation of U also takes place in strips of the fibrous layer of periosteum peeled off from bone compacta. The treatment for 20′ with HNO_3 1:1,000 greatly reduces the *alpha* activity of these pieces.

In *conclusion*, U and Ca^{45} show much the same distribution patterns in sections of bone treated *in vitro* with solutions of these elements. The results obtained with the use of U under some conditions (see experiments reported at 7, 9, 10) are, however, apparently different from the results of similar experiments made with radiocalcium[1]. Such differences seem to indicate that the fixation of the two cations to bone ground substance *in vitro* may not obey the same rules.

R. Amprino

Institute of Anatomy, University of Turin, March 15, 1953.

Résumé

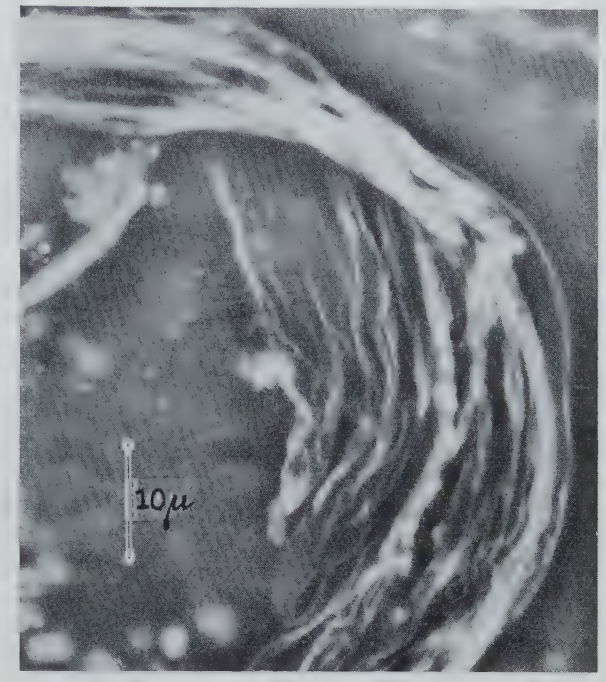
L'auteur a étudié par la méthode autoradiographique la fixation *in vitro* de l'uranium à la substance fondamentale du tissu osseux. Des coupes minces d'os compact total frais ou fixé, d'os minéralisé et d'os décalcifié ont été soumises à l'action de faibles solutions d'uranium. Les résultats de cette recherche sont comparés à ceux que l'auteur avait obtenus précédemment par l'emploi du radiocalcium et du radiophosphore.

La distribution de l'U est qualitativement identique à celle du Ca^{45} et du P^{32}: c'est-à-dire qu'une quantité plus importante d'U se fixe par unité de volume de substance osseuse aux parties moins calcifiées, récemment formées. D'autre part, on a observé des différences assez considérables entre la fixation du Ca^{45} et de l'U; en particulier, ce dernier se fixe *in vitro* non seulement aux cristaux minéraux, mais aussi aux composants organiques de la matrice osseuse.

[1] For the fixation of Ca^{45}, *cf.* R. Amprino, Exper. *8*, 380 (1952).

Membrane Structures in Mucus

In fresh untreated specimens of mucus from the human pharynx and nasal cavity, in saliva, expectorations and gastric contents, and in secretions of the isolated duodenal pouch of a dog, extremely thin membranous structures are regularly seen by the microscope method of the author[1]. Some of these may cover an area of up to several millimeters. Twisted packets of membrane, seemingly identical with Curschmann spirals, are frequently observed in normal expectorations. Sometimes these untwist and unfold into curtain-like formations. Whether the membranes are formed by



A typical membrane formation from pharyngeal mucus.

alteration of the mucus surface or by direct secretion is uncertain. In any case, their influence on the permeability of mucus is obvious.

A. Wilska

Institute of Physiology, University of Helsinki, March 15, 1953.

Zusammenfassung

Im Schleim verschiedener Herkunft sind ausserordentlich dünne Membranbildungen mit der lichtmikroskopischen Kontrastmethode des Autors zu beobachten.

[1] A. Wilska, Nature *171*, 353 (1953).

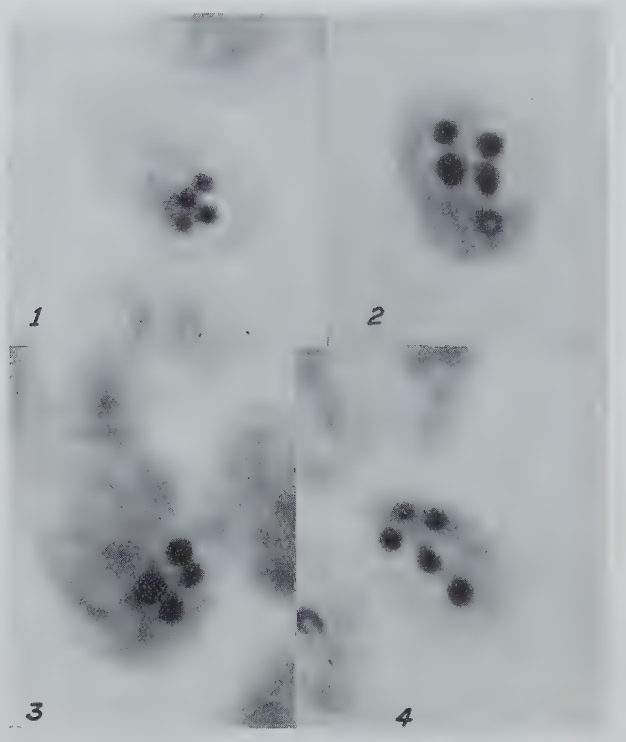
Extra Reproduction of a Chromosome in Yeast

In spite of the lack of unanimity of opinion regarding the time of reproduction of chromosomes, there appears to be justification for the belief that multiple chromonemata are present at various stages of mitosis[1]. It is remarkable that a chromosome which is compound even at the microscopic level "splits" exactly and separates at anaphase into two and only two daughter chromosomes. It may, occasionally, split into three instead of two chromatids as reported by Huskins[2]. What appears to be a similar but rare phenomenon was observed by us in two strains of diploid yeast.

Normal mitosis of our two chromosome control brewery yeast as seen in Feulgen preparations has already been described elsewhere[3]. Figure 1 illustrates an early anaphase showing two pairs of chromosomes. When one

[1] B. P. Kaufmann, Bot. Rev. *14*, 57 (1948).
[2] C. L. Huskins, Amer. Nat. *81*, 401 (1947).
[3] S. Duraiswami and M. K. Subramaniam, Exper. *7*, 422 (1951).

of the chromosomes splits into three instead of two, the early anaphase configuration is that presented in Figure 2. Two such instances alone were noticed in the slides of the control strain.



Longest diameter of Cell.
Fig. 1.—4·0μ. Fig. 2.—3·2μ. Fig. 3.—4·0μ. Fig. 4.—3·2μ.

Recently, investigations on the cytology of an unmodified diploid isolated after exposure of the two chromosome control yeast to camphor for 90 days led to the location of a few cells showing the identical aberration thus confirming the reality of the phenomenon. Figure 3 is an early anaphase and Figure 4 shows five instead of four daughter chromosomes at a comparable stage.

While the completion of the process of budding would ordinarily produce a pair of cells of identical chromosome constitution, those in which an extra splitting of one of the chromosomes has taken place would result in two cells, one with the normal complement of chromosomes and the other with three. Although late ana- and post-anaphases showing such a segregation have not been located up till now, cells having three chromosomes have occasionally been met with in the preparations. Since the diploid chromosome number is two, cells with three chromosomes have to be considered triploid. Stable triploids have not been isolated so far.

The occurrence of triploids as a result of mitotic aberrations[1] during division of a tetraploid has already been reported. That they can also arise in a diploid by an extra splitting of one of the two chromosomes is suggested by the evidence presented here.

While the triploids observed by us are unstable even during early vegetative divisions, there are claims of isolation of stable triploids[1] by mating haploid with diploid spores. The origin of triploids as a result of mitotic aberrations in diploids as well as tetraploids emphasizes the need for confirming genetic investigations on yeasts with cytological observations.

S. Duraiswami, S. K. Sreepathi Rao and M. K. Subramaniam

Cytogenetics Laboratory, Department of Biochemistry, Indian Institute of Science, Bangalore-3, April 1, 1953.

Résumé

La division d'un chromosome en trois chromatides, au lieu de deux, est décrite et figurée dans deux lignées de levures diploïdes ($2N = 2$). Il est montré que les levures triploïdes peuvent résulter d'aberrations mitotiques.

[1] B. Ranganathan and M. K. Subramaniam, Proc. Nat. Inst. Sci. India. *14*, 389 (1948); J. Ind. Inst. Sci. *34*, 235 (1952). – M. K. Subramaniam, Proc. Ind. Acad. Sci. [B] *37*, 27(1953).

[1] C. Lindegren and G. Lindegren, J. Gen. Microbiol. *5*, 885 (1951). – S. Pomper, Nature *170*, 892 (1952).

Über Seeigelmerogone

Etwa 3000 unbefruchteten Eiern von *Sphaerechinus granularis* wurde eine kleine Plasmakappe, die den Kern enthielt, abgeschnitten und die entkernten Eier mit *Psammechinus microtuberculatus* bzw. *Paracentrotus lividus* besamt (heterosperme Merogone). In etwa der Hälfte der Fälle erfolgte Befruchtung und Furchung.

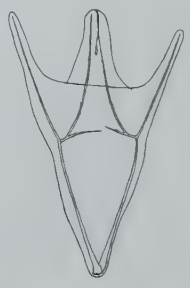


Abb. 1. 8 Tage alter Pluteus von *Paracentrotus lividus* (Vergrösserung 150:1).

Die überwiegende Menge der Keime entwickelte sich nicht über das Blastula- bzw. frühe Gastrulastadium hinaus. In einigen wenigen Fällen schritt die Gastrulation weiter vor, und es wurden kleine Skelettdreistrahler oder grössere, unregelmässig geformte Skelettstücke gebildet. Kontrollfixierungen im 2- und 4-Zellenstadium ergaben haploide Chromosomenzahl.

Abb. 2. 8 Tage alter Merogon von Sphaerechinus-granularis-Plasma und Paracentrotus-lividus-Kern (Vergrösserung 150:1).

2 Merogone der Kombination Sphärechinusplasma und Psammechinuskern sowie 13 Merogone der Kombination Sphärechinusplasma und Paracentrotuskern konnten bis zu schönen Pluteis mit 4 wohlausgebildeten Fortsätzen herangezüchtet werden. Die Larven nahmen

Nahrung auf, und 2 derselben erreichten das Stadium, in dem das 3. und 4. Fortsatzpaar mit dem dazugehörigen Skelett angelegt war.

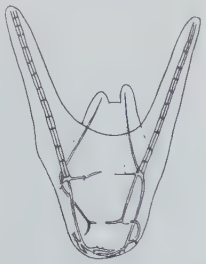


Abb. 3. 10 Tage alter Pluteus von *Sphaerechinus granularis* (Vergrösserung 150:1).

Die Skelette dieser 15 Merogone weisen rein väterlichen Typus auf (keine Gitterstäbe, keine oralen Scheitelstäbe). In einigen Fällen waren Zusatzzacken vorhanden, wie das bei *Psammechinus* und *Paracentrotus* häufig vorkommt. Die Abbildungen 1–3 zeigen das Skelett von Mutter (*Sphaerechinus*), Vater (*Paracentrotus*) und Merogon.

Abb. 4. 18 Tage alter Merogon von Sphaerechinus-granularis-Plasma und Paracentrotus-lividus-Kern (Vergrösserung 150:1).

Die relative Länge der Oral- und Analstäbe folgt dem Psammechinus-(Paracentrotus-)Typus, nicht dem Sphärechinustypus.

Die Wimperepauletten der älteren Merogone weisen Paracentrotustypus auf.

Die Larvenform ist bei den noch jungen Merogonen rein väterlich, mit spitzem Scheitel. Die Scheitelstäbe weisen die typische Keulenform auf. Dann aber rundet sich noch im 4-Fortsätze-Stadium der Scheitel ab, wie es für *Sphaerechinus* charakteristisch ist (Abb. 2), es entsteht über den keulenförmigen Enden der Scheitelstäbe ein Hohlraum, in den lange Zacken der Körperstäbe hineinwachsen, wie sie normalerweise weder bei *Psammechinus* (*Paracentrotus*) noch bei *Sphaerechinus* vorkommen (Abb. 4). Die Fortsätze der älteren Merogone werden mehr breit und lappenförmig, wie es für *Sphaerechinus* charakteristisch ist.

L. VON UBISCH

Paradis, Norwegen, den 7. Mai 1953.

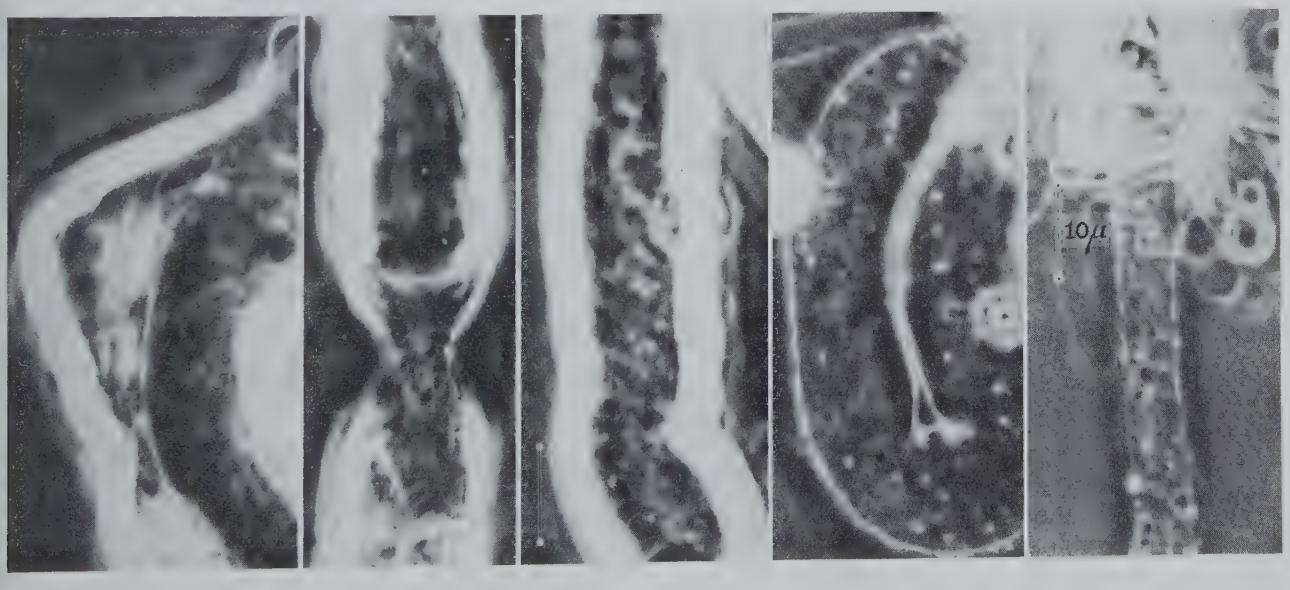
Summary

De-nucleated eggs of *Sphaerechinus granularis* were fertilised with sperms of *Psammechinus microtuberculatus* and *Paracentrotus lividus* (heterosperm merogones). It was possible to culture 15 embryos up to the pluteus stage. The skeletons, the relative lengths of the first pair of lobes, the body form of the young merogones and the ciliated bands of the older merogones all show paternal characters. In the older merogones, the vertex was rounded and the lobes more lobulate than is characteristic for *Sphaerechinus*.

Living Nerve Structure Seen by New Light Optics

With the light microscope arrangement of one of us[1], some details of the fresh, normal nerve fibre can be revealed. The findings are almost identical in mammalian and amphibian nerves. Myelin sheaths frequently split into lamellar structures, especially at sharp bends and other minor traumata. Vesicular bodies ranging from 0·3 to 2 μ are scattered throughout the entire axon, in

[1] A. WILSKA, Nature *171*, 353 (1953).



Fresh mouse nerve preparations showing: (*a*) a bend with the myelin sheath partially detached from the axon and laminating at the outer curvature, (*b*) a node of Ranvier, (*c*) intact axon structure, (*d*) extruded axoplasm, (*e*) the axon lightly pulled out from the myelin tube.

agreement with the electron-microscopic observations of Fernández-Morán[1]. These bodies make up some 2 to 3% of the total volume of axoplasm. Most of the bodies are more refractive than the surrounding axon structure. The axoplasm is easily extruded from the cut end of a fibre, yet its structure remains coherent. The axon can easily be pulled out from the myelin tube and stretched to several times its original length without breaking. In a stretched state the vesicles become ovoid or fusiform.

As noted by Fernández-Morán, previous light-microscopic research has failed to show any details in the normal, fresh axon, not even with the use of dark field, polarization or phase contrast.

A. Wilska and M. Kotilainen

Institute of Physiology, University of Helsinki, March 15, 1953.

Zusammenfassung

Durch Anwendung eines abgeänderten Lichtmikroskops werden Strukturen in lebendfrischen Nervenfasern, die lichtoptisch bisher unsichtbar gewesen sind, deutlich gesehen.

[1] H. Fernández-Morán, Exp. Cell Res. *1*, 143, 309 (1950); *3*, 5 (1952).

Separation and Identification of the Degradation Products of Purines and Nucleic Acids on Acid Hydrolysis by Circular Paper Chromatography

In the course of our investigations on the separation and identification of purine and pyrimidine bases by circular paper chromatography[1], we investigated the nature of the products formed after acid hydrolysis of purines and nucleic acids, using the reagents, sodium 1:2 Naphthoquinone 4-sulphonate (Folin's reagent) in acetone[2], ninhydrin in acetone[1] and the contact printing technique using photographic paper and filtered ultraviolet light[3] for the identification of the substances separated on the chromatogram. While this work was in progress, Frick[4] reported the formation of amino acids in acid hydrolysates of adenine by paper chromatography. He also observed the formation of two ultraviolet spots in addition to the strong ninhydrin-positive spot in the position of glycine after acid hydrolysis of adenine. In view of the above findings of Frick and our observations on the marked differences observed in the hydrolysis products of adenine, nucleic acids, adenosine, adenylic acid, adenosine-3-phosphoric acid on the one hand and those of the other purines and pyrimidines on the other prompted us to report our observations.

Adenine (25 mg) was hydrolysed with (3 cm^3) 6 Normal hydrochloric acid by autoclaving at 15 lbs. pressure for 6 h. After removing the acid, the solution was spotted in 3 aliquots of 5 μl on the circumference of a circle drawn at the centre of the filter paper (Whatman No. 1, 24 cm diameter) and developed with n-butanol-acetic-acid-water according to the procedure described by Giri and Rao[1]. After drying, the chromatogram was cut into three sectors, each containing the hydrolysis products of adenine separated. One of the sectors was sprayed with 0·2% ninhydrin in acetone[1] and the other with Folin's reagent[2]. The third sector was placed on a photographic paper and exposed to filtered ultraviolet light and developed according to the procedure described by Markham and Smith[3] (Fig. 1).

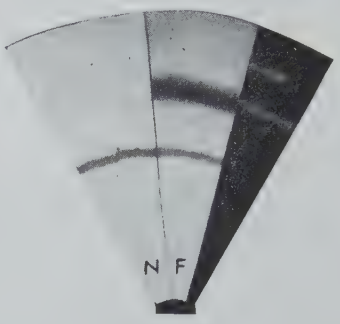


Fig. 1.—Different sectors of circular paper chromatogram of adenine hydrolysate treated as indicated below. *N* Sprayed with ninhydrin. *F* Sprayed with Folin's reagent. *U* Contact print of the sector taken in the ultraviolet.

It was observed that the adenine hydrolysate gives three clear bands on the chromatogram: (1) The band with the lowest R_f value (0·38) gives purple colour with ninhydrin and green colour with Folin's reagent and occupies the position of glycine on the chromatogram; (2) the second band with R_f value (0·69) higher than the first band gives faint yellow colour with ninhydrin (outlined with pencil in Fig. 1) and intense purple with Folin's reagent. It is also characterised by ultraviolet absorption as it appears on the contact print; and (3) the third band which appears on the sector obtained by contact printing technique is due to unhydrolysed adenine. Figure 2 is the reproduction of the chromatogram of adenine and adenine hydrolysate obtained by contact printing technique. It shows the formation of another band characterised by the ultraviolet light absorption, in addition to the one relating to adenine.

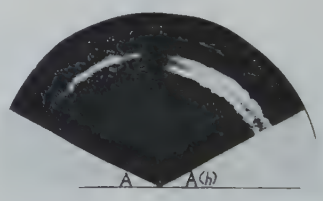


Fig. 2.—A contact print of a sector of a circular paper chromatogram of adenine and adenine hydrolysates taken in the ultraviolet using a chlorine filter. *A* Adenine, *A* (*h*) Adenine hydrolysate.

Other compounds of adenine and nucleic acids were similarly subjected to acid hydrolysis and chromatogramed. Figure 3 is the reproduction of the chromatogram showing the bands of the substances separated on the filter paper, present in the hydrolysates of adenine, ribonucleic acid (R.N.A.), Desoxyribonucleic acid (D.N.A.), Adenosine, Adenylic acid, and Adenosine-3-Phosphoric acid. It was observed that all the substances containing adenine give, in addition to the band occupying the position of glycine band, another band

[1] K. V. Giri and N. A. N. Rao, Nature *169*, 923 (1952); J. Ind. Inst. Sci. *34*, 95 (1952).

[2] K. V. Giri and A. Nagabhushanam, Naturwissenschaften *23*, 548 (1952).

[3] R. Markham and J. D. Smith, Biochemical J. *45*, 294 (1949).

[4] G. Frick, Nature *169*, 759 (1952).

[1] K. V. Giri and N. A. N. Rao, Nature *169*, 923 (1952); J. Ind. Inst. Sci. *34*, 95 (1952).

[2] K. V. Giri and A. Nagabhushanam, Naturwissenschaften *23*, 548 (1952).

[3] R. Markham and J. D. Smith, loc. cit.

with higher R_f value than glycine band, giving an intense purple colour with FOLIN's reagent and faint yellow colour with ninhydrin reagent and characterised by ultraviolet absorption. This band was not present on the chromatograms of other purine and pyrimidine hydrolysates investigated, viz., Guanine, Xanthine, Cytosine, Uracil, Thymine, Hypoxanthine, Uric acid, etc., which gave a band only corresponding to glycine.

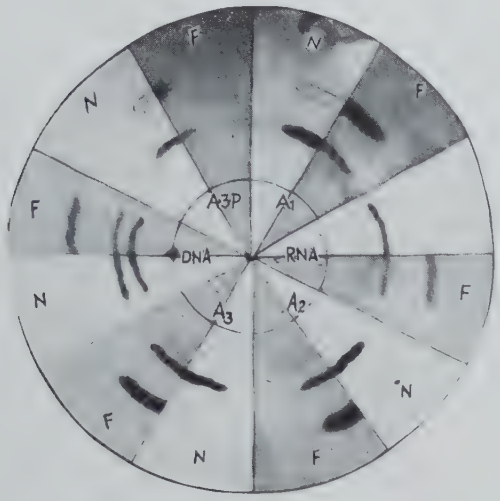


Fig. 3.—Circular paper chromatogram of acid hydrolysates of adenine (A_1), R.N.A., D.N.A., Adenosine (A_2), adenylic acid (A_3), and Adenosine-3-Phosphoric acid (A.3.P). *N* Sectors sprayed with ninhydrin. *F* Sectors sprayed with FOLIN's reagent.

The substances formed in the acid hydrolysates of nucleic acids, adenine and adenine compounds, giving intense purple colour with FOLIN's reagent, was identified tentatively as 4(5) amino-5(4) imidazole carboxamidine as its absorption maximum (λ_{max} – 287 mμ) is in agreement with that given by CAVALLIERI *et al.*[1], who prepared it in 10 % yield by hydrolysing adenine sulphate with 6 N · HCl for 2 h at 150°C and established its constitution unequivocally by its conversion to isoguanine. The formation of this compound from adenine and nucleic acids even under mild conditions of hydrolysis (with N · HCl for 1 h at 100°C) was an another interesting observation made during the course of our investigations.

The appearance of this band on the chromatogram is specific for adenine compounds and nucleic acids. From the foregoing, therefore, it will be seen that the observed reaction of adenine and its compounds and nucleic acids on acid hydrolysis, is of importance in the analysis of nucleic acids, particularly in the determination of the component purines in a nucleic acid. These observations seem to call for greater care in the interpretation of the results obtained by spectro-photometric determination of purines after acid hydrolysis of nucleic acids.

K. V. GIRI, P. R. KRISHNASWAMY,
G. D. KALYANKAR, and
P. L. NARASIMHA RAO.

Departement of Biochemistry, Indian Institute of Science, Bangalore 3, India, April 15, 1953.

[1] L. F. CAVALLIERI, J. F. TINKER, and G. B. BROWN, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 3973 (1949).

Zusammenfassung

Die Degradationsprodukte, die sich bei der Hydrolyse der Purine, der Pyrimidine und der Nukleinsäuren bilden, werden mittels runder Filterpapierscheiben chromatographisch untersucht. Adenine, Nukleinsäuren und Adeninverbindungen zeigen bei einer Säurehydrolyse ausser einem Band, das den Platz des Glycin einnimmt, noch ein weiteres Band. Dieses Band ist versuchsweise als 4(5)-amino-5(4)-imidazol Carboxamidin charakterisiert worden. Die Bedeutung dieser Ergebnisse für die quantitative Analyse der Nukleinsäuren und Adeninverbindungen wird in der vorliegenden Arbeit erörtert.

Trikarbonsäurezyklus im Stoffwechsel von *Corynebacterium diphtheriae*

Bei routinemässiger Züchtung von *C. diphtheriae* für technische Produktion von Diphtherietoxin konnte nachgewiesen werden, dass sich Bernsteinsäure, Apfelsäure, Zitronensäure, Brenztraubensäure, Oxalessigsäure und α-Ketoglutarsäure in der Kulturflüssigkeit anhäufen. Als Substrat diente ein modifiziertes Kaseinhydrolysat nach HOLT[1]. Die Züchtungsdauer betrug 5 Tage bei 34°C und die Toxinausbeute 100–120 L_f-Dosen/ml. Bernsteinsäure wurde als Silbersalz, Apfelsäure und Zitronensäure nach PUCHER *et al.*[2] sowie papierchromatographisch[3] und die Ketokarbonsäuren durch Papierchromatographie ihrer 2,4-Dinitrophenylhydrazone[4] nachgewiesen.

Das wachsende Bakterium vermochte zugesetzte Bernsteinsäure, Apfelsäure oder Zitronensäure nicht zu verwerten. Dagegen wurde Essigsäure mit einer Intensität von etwa der gleichen Grössenordnung verbrannt wie Glukose und Maltose. Auch Äthanol und Milchsäure konnten verbraucht werden.

Da die Nichtverwertbarkeit der Polykarbonsäuren vermutlich durch Permeabilitätsbarrieren bedingt ist, wurde ihre Verwertbarkeit mit lyophilisierten Bakterienzellen nachgeprüft. Dabei konnte mit der Thunberg-Technik die Dehydrierung von Bernsteinsäure, Apfelsäure, Zitronensäure und andererseits auch von Essigsäure dargelegt werden. Die Succinodehydrase erwies sich inhibierbar durch Malonsäure. Weiterhin konnte die Bildung von α-Ketoglutarsäure aus Zitronensäure und die Umbildung von Fumarsäure in Apfelsäure durch die Einwirkung von lyophilisierten Bakterienzellen unter aeroben Bedingungen festgestellt werden.

Das Auftreten der obenerwähnten Intermediate und Reaktionen im Stoffwechsel des Diphtheriebakteriums lässt vermuten, dass auch die Verwertung des Azetats möglicherweise über den Trikarbonsäurezyklus erfolgt. Untersuchungen über das Auftreten des Koenzyms A und über die Inhibierung der Azetatverbrennung durch Malonsäure sowie über das verschiedene Dehydrierungsvermögen der einerseits mit Maltose, andererseits mit Azetat gezüchteten lyophilisierten Bakterien hinsichtlich Zitronensäure werden noch fortgeführt.

[1] L. B. HOLT, Brit. J. Exp. Path. *29*, 335 (1948).

[2] W. PUCHER, A. J. WAKEMAN und H. B. VICKERY, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. *13*, 244 (1941). – W. PUCHER, C. C. SHERMAN und H. B. VICKERY, J. Biol. Chem. *113*, 235 (1936).

[3] M. L. BUCH, R. MONTGOMERY und W. L. PORTER, Anal. Chem. *24*, 489 (1952).

[4] D. CAVALLINI, N. FRONTALI und G. TOSCHI, Nature *163*, 568 (1949).

Als Versuchsobjekt diente in allen Versuchen die «Toronto»-Variante CN 2000 von *C. diphtheriae*, die von Dr. F. V. Linggood, Wellcome Research Laboratories, Beckenham, England, freundlichst zu unserer Verfügung gestellt wurde.

L. Jännes

Arzneimittelfabrik Orion Oy., Mikrobiologische Abteilung, Helsinki, Finnland, den 6. Mai 1953.

Summary

The possible role of tricarboxylic acid cycle in the metabolism of *C. diphtheriae* was studied. The occurence of succinic, malic, citric, pyruvic, oxaloacetic, and α-ketoglutaric acid in the culture filtrate and, on the other hand, the dehydrogenation of succinic, malic, citric, and acetic acid by freeze-dried bacteria could be demonstrated.

On the Inactivating Properties of Liver Homogenates on Succinoxidase Activity of Isolated Mitochondria

Many techniques have been described in recent years permitting the fractionation of the cell. It was found that many enzymatic activities, and particularly those concerned with the respiratory processes, are localized in the "mitochondrial fraction" (Hogeboom *et al.*[1]; Schneider[2]). It was established in a previous paper of the author[3] that fresh serum from many kinds of animals produces slight acceleration of the mitochondrial succinoxidase activity, which is changed to a strong inhibition after incubation at 37°C for 30 min. This effect was attributed to the lipase content of the tested sera.

It seemed interesting to study if a similar inactivating property is present also in liver homogenates. This paper shows that some inactivating principles, probably of enzymatic nature, are in fact contained in the supernatant fluid after the sedimentation of mitochondria and microsomes from liver homogenates.

Mitochondria were isolated with 0·25 *M* sucrose from 10% liver homogenates. White rats from a selected strain and weighing 90–100 g, were used in these experiments. After a first centrifugation at 1500 g for 15 min, which produced the sedimentation of tissue débris, undamaged cells, nuclei, red cells and some mitochondria, the main portion of mitochondria was sedimented by a second centrifugation at 12,000 g in the SS-I Servall Centrifuge, in the cold room at 5°C. The supernatant fluid after this centrifugation, which contained microsomes and the soluble part of the cytoplasm, was submitted to a new centrifugation at 22,000 g for 2 h. The sediment was mainly made up of microsomes. Mitochondria were washed twice with 0·25 *M* sucrose, and then suspended in 0·067 *M* phosphate buffer solution (pH 7·4). Tests for succinoxidase activity were made manometrically in a Warburg conventional apparatus at 38°C, by measuring the O_2-uptake of a suspension of mitochondria corresponding to 0·25 g of the tissue in the presence of 0·0125 *M* sodium succinate, 0·2 ml 30% KOH being placed in the central well of the vessels. Neither $CaCl_2$ nor cytochrome *c* were added in the main experiments, because it was observed in previous work that no influence is exerted by these substances when the experiments are made with an excess of enzyme material. Succinoxidase activity of homogenates was similarly studied, a suspension corresponding to 0·25 g of tissue beeing placed in each vessel. Each experiment lasted 1 h, but readings were made every 10 min. N content of samples of the preparations was determined at the end of each experiment by microkjeldhal technique and QO_2 (N) values (i.e. mm^3 O_2 consumed in 1 h/mg of N) were calculated. In a first series of experiments the effect of incubation at 38°C on succinoxidase activity of liver homogenates and isolated mitochondria was studied. Mitochondria and homogenates were prepared from 1 g liver, and the final volume of each suspension was 12 ml, 0·067 *M* phosphate buffer (pH 7·4) being used as a suspension medium. Incubation at 38°C was performed in a thermostat, and the succinoxidase activity of 3 ml samples withdrawn from each suspension was determined at periods of 0,1, 2, 3 h. The whole procedure was made in sterile vessels, in order to avoid any bacterial interference. Sterility controls were made at the end of each experiment. Table I shows that, while the enzymatic activity of the homogenates decreases strongly as a consequence of incubation at 38°C, that of the mitochondrial suspension decreases at a very lower rate. After 3 h of incubation, succinoxidase activity of homogenates is decreased 47·5%, that of mitochondria only 16·9%.

Table II

Difference of activity between mitochondria isolated from fresh homogenates and mitochondria isolated from homogenates incubated at 38°C

Time of incubation	Mitochondria from fresh homogenates	Mitochondria from incubated homogenates
Non-incubated	218·0	
1 h	215·0	170·1
2 h	200·6	140·6

In a second series of experiments, succinoxidase activity of mitochondria isolated from homogenates incubated at 38°C for 1 h and for 2 h was compared with that of mitochondria isolated from a fresh homogenate

[1] G. H. Hogeboom, A. Claude, and R. D. Hotchkiss, J. Biol. Chem. *165*, 615 (1946).
[2] W. C. Schneider, J. Biol. Chem. *165*, 585 (1946).
[3] M. U. Dianzani, Exper. *7*, 102 (1951).

Table I

Influence of incubation at 38°C on succinoxidase activity of liver homogenates and mitochondria (The data are expressed at $QO_2(N) \pm \sigma$ = standard deviation)

	Number of experiments	Non-incubated controls	Samples incubated for		
			1 h	2 h	3 h
Homogenates	5	51·6 ± 0·9	40·8 ± 1·9	33·1 ± 0·9	27·1 ± 1·4
Inactivation %			20·9	35·8	47·5
Mitochondria	5	216·5 ± 2·3	210·7 ± 0·4	199·3 ± 2·0	179·5 ± 2·1
Inactivation %			2·5	10·5	16·9

and incubated at 38°C for 1 and for 2 h. As shown in Table II, succinoxidase activity of mitochondria isolated from incubated homogenates is remarkably lower than that of mitochondria isolated from fresh homogenates.

In other experiments, the effect of the incubation with supernatant fluid on the succinoxidase activity of isolated mitochondria was studied. Mitochondria from 1 g of liver were suspended into 12 ml of 0·067 *M* phosphate buffer, divided into 4 aliquots of 3 ml each and allowed to stand in a thermostat at 38°C. 2 ml of the supernatant fluid coming from the same homogenate were added to 3 of 4 aliquots, while the first one was used as a control at time *O*. Succinoxidase activities of incubated aliquots were tested after 1, 2, 3 h. After the incubation time,

Table III
Influence of incubation with supernatant fluid on succinoxidase activity of isolated mitochondria

	Non-incubated controls	Samples incubated with supernatant fluid for		
		1 h	2 h	3 h
Number of experiments . .	3	3	3	3
$QO_2(N)$	211·9	185·2	174·4	155·9
$\sigma \pm$	3·5	4·4	5·0	5·2
Inactivation %		12·6	17·7	26·4

each sample was submitted to a centrifugation at 22,000 g for 30 min and succinoxidase activity was tested on the sediment. As shown in Table III, incubation with the supernatant fluid produces a definite inactivation of the enzymatic activity. This inactivation did not occur when mitochondria were incubated with boiled, instead of with crude, supernatant fluids. Potentiometric determinations of pH of the suspensions were made after 3 h of incubation, but the very slight decrease which was observed seemed not sufficient to justify such a strong inactivation of enzymatic activity.

In another group of experiments, the influence of the microsome fraction on mitochondria succinoxidase was studied after incubation for 1, 2 and 3 h at 38°C, but no influence was observed.

It appears that one or more principles, probably of enzymatic nature, contained in the supernatant fluid are responsible for the inactivation phenomenon observed.

M. U. Dianzani

Department of General Pathology, University of Genoa, March 8, 1953.

Résumé

L'auteur a étudié l'action des liqueurs surnageantes après la sédimentation des mitochondries et des microsomes de l'homogénate de foie sur l'activité succinoxidasique des mitochondries isolées. Il a trouvé une action inhibitrice qui disparaît après ébullition. Les microsomes n'ont aucune influence.

Substances fluorescentes du type ptérinique dans la peau ou les yeux de la grenouille *(Rana nigromaculata)* et leurs transformations photochimiques

Goda[1], en 1941, a nommé une substance fluorescente isolée de la peau dorsale de *Rana nigromaculata*. Selon lui, le pyrrol-chrome joue un rôle physiologique important.

Nous avons signalé dans d'autres travaux les propriétés des substances fluorescentes du type ptérinique des divers animaux (vers à soie[1], papillon, carpe[2], crapaud[3], grenouille[4], etc.) et le rôle de telles substances dans la mélanogénèse[5].

Nous donnerons ici brièvement nos résultats sur les substances fluorescentes de *Rana nigromaculata*.

1° Présence de plusieurs substances fluorescentes dans la peau dorsale (noire) et ventrale (blanche), dans les yeux, et leurs propriétés. Nous avons proposé le nom collectif de «rana-chrome» pour les substances fluorescentes extraites de tels tissus par le méthanol, l'ammoniaque ou l'acide acétique. Les rana-chromes sont des substances désignées ici (Tableau) par des chiffres (1–6) qui correspondent aux termes d'une échelle basée sur la valeur décroissante de *Rf* (dissolvant; butanol: acide acétique : eau 4 : 1 : 1) du chromatogramme sur papier.

On découpe ces taches fluorescentes du chromatogramme et on en extrait la substance par le méthanol, l'ammoniaque ou l'eau. Ainsi nous avons examiné les propriétés et les spectres d'absorption des pigments, dont quelques-uns ont pu être rapportés à des substances déjà connues (Tableau).

Les rana-chromes sont en général thermostables. Le rana-chrome 1 est un cristal cubique, coloré en jaune clair, dont la solution aqueuse a la fluorescence bleu ciel. Cette substance correspond donc au pyrrol-chrome même et n'est pas tout à fait identique à la fluorescyanine qui pourtant avait été désignée comme étant le pyrrol-chrome par les savants français[6] (voir Tableau).

Propriétés de plusieurs substances fluorescentes isolées de la peau et les yeux de *Rana nigromaculata*

Substances fluorescentes	Couleur de la fluorescence à pH 7	Valeur de *Rf*
Rana-chrome 1, pyrrol-chrome	bleu ciel	0,46
Rana-chrome 2, riboflavine	jaune	0,43
Rana-chrome 3	bleu ciel	0,40
Rana-chrome 4, fluorescyanine ou ichtyoptérine (?)	violet	0,33
Rana-chrome 4B	bleu ciel	0,24
Rana-chrome 5, acide d'Angier	bleu ciel	0,22
Rana-chrome 6, flavine-adénine-dinucléotide . . .	jaune	0,06

Le rana-chrome 4 est un cristal aciculéiforme blanc. La solution aqueuse présente une fluorescence violette, elle est réductible par l'hydrosulfite, mais récupère, par simple agitation dans l'air, sa fluorescence. D'ailleurs, cette substance a donné jusqu'à présent la même valeur

[1] T. Goda, J. Fac. Sci. Imp. Univ. Tokyo, Sec. IV *5*, 305 (1941).

[1] T. Hama, H. Aruga et Y. Maki, Zool. Mag. *58*, 219 (1949).

[2] T. Hama, T. Goto et K. Kushibiki, Science (Japon) *22*, 478 (1952). Il y a deux sortes de Cyprinus purple *A* et *B* dans la peau et les écailles de la carpe, la première correspond à la fluorescyanine.

[3] T. Hama, T. Goto, K. Oi et K. Kushibiki, Science (Japon) *22*, 542 (1952). Nous avons nommé «Bufo-chrome» une substance isolée de la peau du *Bufo vulgaris*, leur solution aqueuse ayant la fluorescence bleue ciel.

[4] T. Hama, Zool. Mag. *61*, 89 (1952).

[5] T. Hama et T. Goto, Zool. Mag. *61*, 88 (1952).

[6] M. Polonovski, P. Gonnard et A. Baril, Enzymologia *14*, 311 (1951).

Rf que celle de la fluorescyanine[1] ou de l'ichtyoptérine[2], même si l'on emploie plusieurs dissolvants. Mais, nous pensons que le rana-chrome 4, quoique très semblable, n'est pas identique à la fluorescyanine, puisque la première se décompose à la lumière comme on le voit plus loin.

Le rana-chrome 5 est obtenu en poudre amorphe, colorée en brun jaunâtre, sa solution aqueuse ayant une fluorescence bleu ciel.

On retrouve les mêmes substances fluorescentes en grande quantité dans la peau dorsale et en moindre quantité dans la peau ventrale, sans tenir compte de leur contenu en riboflavine, car cette riboflavine ne se trouve que dans la peau du dos et n'existe pas dans celle du ventre.

2° Transformation photochimique du rana-chrome. A la lumière, chaque solution aqueuse du rana-chrome 1, rana-chrome 3 ou rana-chrome 4 se transforme assez facilement en rana-chrome 5.

D'autre part, il est connu que l'acide folique se décompose à la lumière en donnant deux substances fluorescentes, l'une est l'acide 2-amino-4-hydroxy-ptéridine-6-carboxylique[3] (acide d'Angier[4]).

En comparant le rana-chrome 5, l'acide d'Angier synthétisé[5] au composant décomposé de l'acide folique[5], nous avons constaté que leurs couleurs, fluorescences, spectres d'absorption et valeur *Rf* (phénol ammoniacal, butanol-acétique, butanol-alcoolique, NH_4Cl à 3% ou acide acétique à 10% comme dissolvants[6]) sont tout à fait les mêmes.

Tous ces faits nous ont conduits à la conclusion que le rana-chrome 5 n'est que l'acide d'Angier. Nous avons déjà insisté sur ce fait dans une note précédente[7].

3° Libération du rana-chrome lié à la lumière. Une partie du rana-chrome est extractible très facilement par diverses solutions, mais l'autre ne s'extrait qu'à peine par dénaturation (par exemple: bouillonnement après dialyse complète), et pour les extraire parfaitement on a besoin de la complète hydrolyse alcaline ou acide ou de la destruction enzymatique.

Nous avons d'ailleurs démontré en utilisant la chromatographie sur papier que si on expose les rana-chromes dans un milieu neutre, alcalin ou acide à la lumière, il y a une augmentation considérable de la fluorescence et en même temps la transformation photochimique en rana-chrome 5, que nous avons décrite précédemment.

Ces résultats nous ont conduits à l'idée que certains des rana-chromes existent à l'état libre et d'autres sont associés à des couples protidiques (par exemple: nucléoprotéine extraite de la peau dans la même espèce).

Les faits dont nous avons parlé plus haut suggèrent que le rana-chrome joue un rôle physiologiquement important ayant rapport à l'acide folique et aussi quelque rôle sur la fonction oculaire.

Ce travail a été exécuté avec la subvention pour les recherches scientifiques du Ministère de l'éducation.

T. Hama

Laboratoire biologique de l'Université de Kéio, Japon, le 19 janvier 1953.

[1] M. Polonovski, R. G. Busnel et M. Pesson, C. r. Acad. Sci. Paris *217*, 163 (1943).

[2] R. Hüttel et G. Sprengling, Ann. Chem. *554*, 69 (1943).

[3] S. Kuwada et T. Masuda, Vitamine (Japon) *3*, 261 (1951).

[4] M. Polonovski, P. Gonnard et A. Baril, Enzymologia *14*, 311 (1951).

[5] Cette matière nous a été fournie par le Dr S. Kuwada, directeur de l'Institut des Recherches de la Fabrique pharmaceutique Takéda. Nous l'en remercions infiniment.

[6] R. Tschesche et F. Korte, Ber. dtsch. chem. Ges. *84*, 801 (1951). – Y. Hirata, S. Nawa, S. Matsuura et H. Kakizawa, Exper. *8*, 339 (1952).

[7] T. Hama, Zool. Mag. *61*, 89 (1952).

Summary

We proposed the collective name of "Rana-chrome" for the fluorescent substances isolated from the skin and eyes of *Rana nigromaculata*. Pyrrol-chrome corresponds to Rana-chrome 1, Rana-chrome 4 is the same as or very similar to fluorescyanine or ichtyopterin. Each of Rana-chrome 1, Rana-chrome 3 or Rana-chrome 4 transforms into Rana-chrome 5 on irradiation. Data available permit assigning to Rana-chrome 5 the structure of a 2-amino-4-hydroxy-pteridine-6-carboxylic acid, one component of the photolysis of folic acid.

If the neutral, acid or alkaline solution of Rana-chromes extracted from skin is exposed to the light, there occurs a considerable augmentation of fluorescence. From the observations reported in this paper, it is suggested that some of Rana-chromes exist in free state and the others are associated with proteins.

Etude physiologique du parasitisme de l'*Uromyces Pisi* (Pers.) de By, sur l'*Euphorbia Cyparissias* L.

I.–Premières observations[1]

Le parasitisme de l'*Euphorbia Cyparissias* par l'*Uromyces Pisi* a été étudié du point de vue morphologique, anatomique et cytologique par quelques auteurs parmi lesquels il convient de citer Schröter[2], Jordi[3], Massalongo[4], Stämpfli[5], Tischler[6] surtout et Moehrke[7]. Nous relèverons l'essentiel des troubles morphologiques présentés par les plantes parasitées (Fig. 1):

Fig. 1. *A* Plantes complètes; *T* Témoins; *P* Parasitées; *1* Fleur. Echelle: le trait = 10 cm. *B* Feuilles; *1* Base; *2* Pointe; *3* Conceptacle écidien. Echelle: le trait = 1 cm.

1° Les tiges ne sont pas ramifiées en général; plus longues et plus grêles, elles résistent mieux en culture.

2° Les feuilles sont plus courtes, plus larges et plus épaisses; en général jaune pâle, elles adoptent une forme en cuiller et tombent prématurément.

[1] Je tiens à remercier M. Ch. Terrier (Station fédérale d'essais) pour les nombreux renseignements bibliographiques qu'il a bien voulu me communiquer.

[2] J. Schröter, Hedwigia *15*, 98 (1875).

[3] E. Jordi, Zbl. Bakt. Parasit. Infektionskrankh. *13*, 64 (1904).

[4] C. Massalongo, Bull. Soc. bot. ital. *158*, 000 (1905).

[5] R. Stämpfli, Hedwigia *49*, 230 (1904).

[6] G. Tischler, Flora *104*, 1 (1911).

[7] L. Moehrke, Bot. Arch. *18*, 347 (1927).

3° Les fleurs sont en général atrophiées.

Du point de vue physiologique, il faut signaler le travail de MARESQUELLE[1], dans lequel cet auteur observe entre autre que la respiration des plantes parasitées par l'UROMYCES est plus active que celle des tissus indemnes. Dans son étude consacrée au parasitisme provoqué par des champignons, THATCHER[2] aborde le problème de la perméabilité des cellules parasitées et GUYOT[3] distingue plusieurs races biologiques d'*Uromyces* susceptibles de provoquer des troubles morphologiques différents[4].

II.–Distribution des auxines

a) *Historique.* En étudiant les hormones du *Rhizopus suinus*, THIMANN[5] montre que ce champignon est capable, à partir du tryptophane, de synthétiser l'hétéroauxine. WEBER[6] prouve l'action de l'acide *b*-indolylacétique sur le développement du *Saccharomyces*. HAWKER[7], sur le *Melanospora destruens*, prouve que les hormones de croissance n'agissent qu'en présence de biotine et d'aneurine. DEFAGO[8] étudie l'effet de l'aneurine et de l'hétéroauxine sur la croissance de parasites de *Triticum*. KÖGL et VERKAAIK[9] constatent que le *Phycomyces* contient surtout de l'hétéroauxine et 4 % d'auxines dont les 96 % seraient détruits par la lumière. MORQUER et NYSTERAKIS[1] notent que l'hétéroauxine augmente la perméabilité et la plasticité des membranes du *Candida albicans* et favorise son accroissement. BERDUCOU[2] confirme ces observations à propos du *Nectria*. ROULET[3] poursuit des recherches sur le *Phycomyces* et les facteurs de croissance. BEIN[4], sur le *Mucor hiemalis* et le *Rhizopus suinus*, étudie l'action de divers facteurs de croissance. PILET[5] montre que l'*Endophyllum Sempervivi*, parasite du *Sempervivum tectorum*, cause des troubles importants dans la morphogenèse de la plante en favorisant une élévation du taux en auxines de l'hôte. BOUILLENNE et EVRARD[6] étudient l'influence des substances hormonales sur le mycélium de l'*Agaricus Hortensis*.

b) *Mesures.* En employant nos techniques habituelles (PILET[7]) nous constatons (Fig. 2) que:

1° L'allongement des feuilles est moins rapide pour les organes parasités que pour les témoins;

2° La concentration en auxines dosables augmente très rapidement et atteint son maximum vers le vingtième jour de développement;

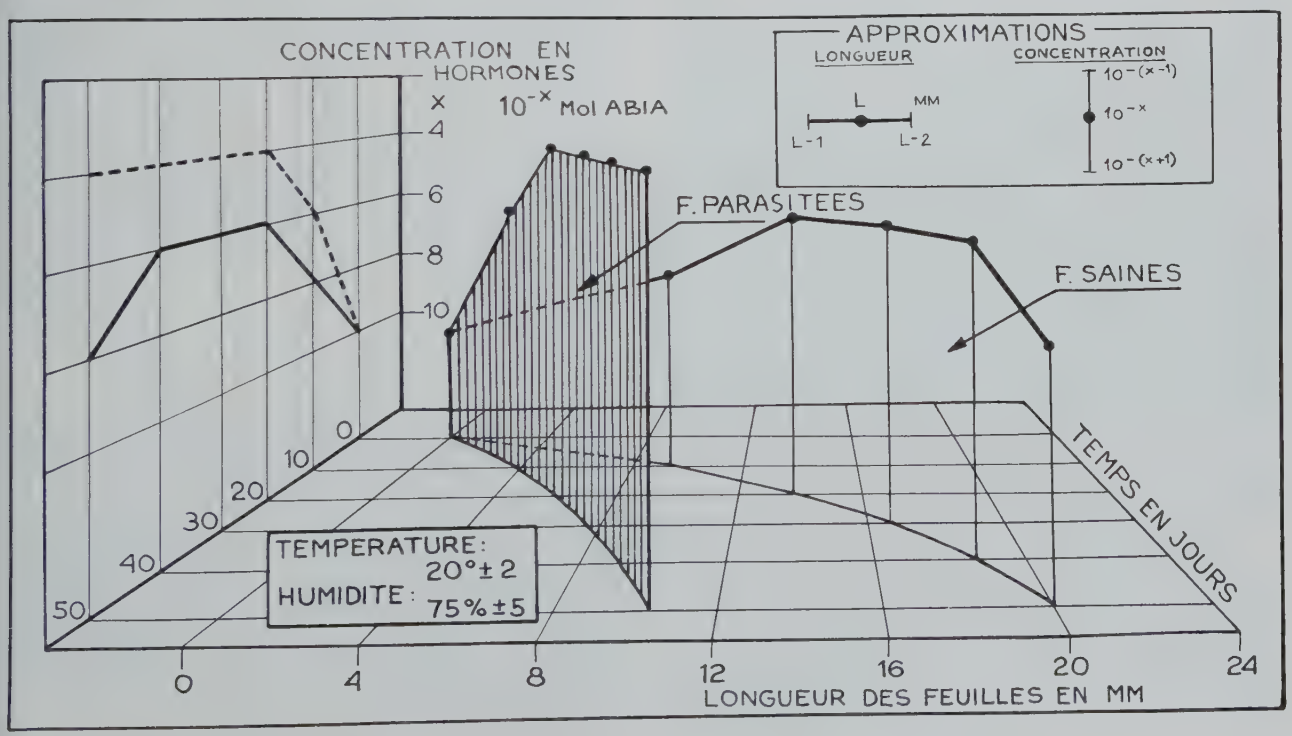
3° Les feuilles parasitées contiennent plus d'hormones que les feuilles normales (10^{-4} pour 10^{-6} Mol. ABIA).

4° La concentration en auxines paraît demeurer constante pour les feuilles malades, alors qu'elle diminue, dès le quarantième jour, pour les feuilles témoins.

[1] H. MARESQUELLE, Thèse Paris (1929).
[2] F. S. THATCHER, Amer. J. Bot. *26*, 449 (1939).
[3] A. L. GUYOT, Ann. Ecole agr. Grignon *2*, 45 (1937) et *3*, 58 (1938–1939).
[4] Une partie des cultures a été entreprise au jardin botanique par M. MICHEL; les photographies qui accompagnent ce travail sont dues à M. VILLARET. Je remercie bien vivement ces trois collaborateurs.
[5] K. V. THIMANN, J. Biol. Chem. *109*, 279 (1935).
[6] A. PH. WEBER, Thèse Paris (1936).
[7] L. HAWKER, Ann. Bot. N. S. *2*, 657 (1939).
[8] G. DÉFAGO, Phytopathol. Z. *13*, 293 (1940).
[9] F. KÖGL et B. VERKAAIK, Z. Physiol. Chem. *280*, 162 (1944).

[1] R. MORQUER et FR. NYSTERAKIS, Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse *83* (1948).
[2] J. BERDUCOU, C. r. Acad. Sci. *231*, 367 (1950).
[3] M. A. ROULET, Exper. *7*, 177 (1951).
[4] M. L. BEIN, Thèse Berne (1951).
[5] P. E. PILET, Bull. Soc. bot. suisse *62*, 269 (1952).
[6] M. BOUILLENNE et L. EVRARD, C. r. Rech. C. Rech. Horm. *6*, 127 (1952).
[7] P. E. PILET, Bull. Soc. bot. suisse *60*, 5 (1950); Mém. Soc. vaud. Sci. nat. *64*, 137 (1951); Exper. *7*, 262 (1951); Bull. Soc. vaud. Sci. nat. *65*, 197 (1952); Phyton (Austria) *4*, 247 (1953).

Fig. 2. (Voir texte.)



III.–Autres expériences

a) *Traitement auxinique.* Ajoutons au milieu de culture (1/3 de tourbe et 2/3 de sable) contenant des plantes saines et parasitées, une solution de b. indolylacétate de K (1 l par m^2) à une concentration de 10^{-5} Mol. BIAK. Nous constatons (Fig. 3) que les plantes fortement parasitées se courbent vers le centre de la terre (de géotropiquement négatives, elles deviennent géotropiquement positives). Nous pouvons expliquer cette inversion en se rappellant que les tiges fortement parasitées contiennent déjà une grande concentration d'auxines

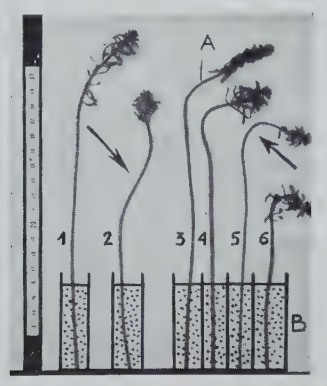


Fig. 3. *A* Plante; *B* Solution de b. indolylacétate de K à 10^{-5} Mol. BIAK. 1, 2 ... 5, 6 différents stades de parasitisme. Observations 4 jours après le traitement.

actives; un apport extérieur augmente encore la teneur en hormones (dose susoptimale) et ces tiges se comportent alors comme des racines (Geiger-Huber et Huber[1], Pilet[2]).

b) *Excitation lumineuse.* Soumettons un lot d'Euphorbes normales et parasitées à des radiations ultra-violettes (lampe de Wood à 30 cm de la plante; longueur d'onde: 3600 Å $\pm$ 50). Nous constatons (Fig. 4) que:

Fig. 4. *T* Témoin; *P* Parasitées; *L* Sens des radiations ultra-violettes. 1, 2... 5, 6 divers stades de parasitisme. Observations faites 18 h. après le début du traitement.

1° des plantes saines ne réagissent presque pas après 18 h de traitement;

2° des plantes faiblement parasitées présentent après le même temps un phototropisme positif;

3° des plantes fortement parasitées présentent d'abord un phototropisme positif, puis deviennent négativement phototropiques.

Nous pouvons interpréter ce phénomène de la façon suivante: au début, la présence d'hormones entraîne une réaction positive, car les auxines détruites ou inactivées sur la face éclairée ne peuvent plus stimuler la croissance de cette face, alors que l'autre grandit davantage. Mais si la concentration des hormones augmente et devient susoptimale (de par la présence du parasite), la face dans l'ombre est alors inhibée et la face éclairée croît davantage, d'où courbure négative.

IV.–Discussion et résumé

Nous reprendrons les différents points de ce travail:

1° Les plantes de l'*Euphorbia Cyparissias* parasitées par l'*Uromyces Pisi* présentent un certain nombre de troubles morphologiques: tiges non ramifiées, plus longues, plus grêles et plus résistantes – feuilles plus courtes, plus larges, plus épaisses, jaune pâle, en forme de cuiller et tombant prématurément – castration florale.

2° L'allongement est moins rapide pour les feuilles parasitées que pour les autres.

3° Les feuilles parasitées sont plus riches en hormones et elles conservent plus longtemps cette concentration élevée que les feuilles saines qui, avec le temps, perdent une partie de leurs auxines.

4° Traitées par des auxines, les tiges malades deviennent géotropiquement positives; on peut interpréter cette inversion par une trop forte concentration (dose susoptimale) d'auxines due à la présence du champignon parasite.

5° Eclairées par des radiations ultra-violettes, les tiges parasitées présentent un phototropisme négatif, phénomène qu'on peut aussi expliquer par le taux élevé en hormones des plantes malades.

6° Mais un point déjà signalé (Pilet[1]) reste encore à résoudre. On peut se demander qu'elle est l'origine de cette production d'auxines dans la feuille. Plusieurs thèses doivent être envisagées:

a) Le champignon fabrique des auxines qui augmentent la concentration en hormones des tissus parasités.

b) La plante malade réagit en fabriquant des auxines en excès.

c) Le parasite, en élaborant des corps spéciaux, assurerait l'activation de précurseurs d'auxines.

Ce problème ne sera vraissemblablement résolu que par l'étude biochimique du phénomène et grâce à la culture pure de l'*Uromyces*.

P. E. Pilet

Institut de Botanique, Université de Lausanne, le 3 décembre 1952.

Summary

Leaves of *Euphorbia* parasitised with *Uromyces* are richer in hormones, and retain this high concentration longer, than the healthy leaves which gradually lose a part of their auxines. When treated with growth substances, the diseased pedicles become positively geotropic. This inversion may be explained by the presence of an excessive concentration of auxines due to the parasitic fungus. The same pedicles, after ultra-violet irradiation, show a negative phototropism, a phenomenon which might also be explained by the high level of hormones in the diseased plants.

[1] M. Geiger-Huber et H. Huber, Exper. *1*, 26 (1945).

[2] P. E. Pilet, Act. Soc. helv. Sci. nat., Lausanne *129*, 155 (1950); Bull. Soc. vaud. Sci. nat. *65*, 197 (1952); *65*, 409 (1953) – P. E. Pilet et W. Wurgler, Bull. Soc. vaud. Sci. nat. *65*, 317 (1953).

[1] P. E. Pilet, Bull. Soc. bot. suisse *62*, 269 (1952).

The question still remains: what is the exact source of these auxines? Since a biochemical study of the phenomenon, which might be undertaken by means of a pure culture of uromyces, has as yet not been atempted, it is at present only possible to suggest a hypothesis: (a) that the fungus makes the auxines from which the level of the auxines in the parasitised tissues is augmented, or (b) that the diseased plant reacts by making an excess of auxines, or (c) that the parasite, by the formation of special bodies, causes the activation of the precursors of the auxines.

Comparative Antifibromatogenic Action of Progesterone and Δ^{11}-dehydroprogesterone

Among the different derivatives of progesterone with a double bond Δ^{11}-dehydroprogesterone offers a special interest. When first prepared (SHOPPEE and REICHSTEIN[1]; HEGNER and REICHSTEIN[2]; VON EUW and REICHSTEIN[3]) it was found to be progestational; but due to the small quantities of the compound then available, no exact knowledge about its progestational potency was obtained. More recently the group of WETTSTEIN (MEYSTRE *et al.*[4]) were successful in preparing the Δ^{11} compound in larger quantities; the Δ^{11} compound was shown to be 3 times as progestational as progesterone in the rabbit test. Thus the Δ^{11} compound apparently is the most active "gestagen", to use MIESCHER's[5] terminology.

Progesterone is known so far to be the most potent antifibromatogen (LIPSCHUTZ and VARGAS[6]; LIPSCHUTZ *et al.*[7]; LIPSCHUTZ[8]). However, antifibromatogenic potency is not concomitant with progestational potency; when the progestational potency of androgens is increased by substitutions at C_{17} their antifibromatogenic potency does not increase correspondingly (LIPSCHUTZ[9]; LIPSCHUTZ *et al.*[10]; LIPSCHUTZ[9]). Compounds of more or less equal progestational potency may differ very considerably as to their antifibromatogenic potency as, for instance, methyldihydrotestosterone and ethinylandrostenediol (IGLESIAS *et al.*[11]; see also MASSON and SELYE[12]). Thus it seemed of considerable interest to examine the following two questions: (1) will the Δ^{11} compound share with progesterone the faculty to prevent oestrogen-induced abdominal fibroids in the guinea-pig; and (2) will the antifibromatogenic potency of the Δ^{11} compound increase with the progestational one?

Experiments.—The results obtained with 30 castrated female guinea-pigs receiving simultaneously oestradiol and the Δ^{11} compound are summarized in the Table.

The Δ^{11} compound was absorbed from subcutaneously implanted pellets, or tablets, of 15 to 22 mg each; in experiments with smaller quantities half a tablet was used, or tablets containing 40% of the specific steroid and 60% of cholesterol. Absorption from mixed pellets was calculated on the assumption of non selective absorption; absorption per day was obtained by dividing loss of weight of the dried pellet by the number of days (for the errors implied see FUENZALIDA[1]; FUENZALIDA and LIPSCHUTZ[2]). For greater details in the present experiment see the footnotes of the Table. Oestradiol was absorbed from pellets of 13 to 20 mg; absorption was of 28 to 72 μg per day.

An experiment with 32 animals receiving progesterone has been used for comparison. Absorption of oestradiol was of 26 to 66 μg per day. Two groups of older experiments with 24 animals receiving small quantities of progesterone (LIPSCHUTZ *et al.*[3]) were also added. The groups Progesterone-VI and VII are distant of no less than 10 years from one another; steroids of different chemical concerns have been used. However, results were fully coincident in these 2 groups: an antifibromatogenic effect was obtained with the small quantities of progesterone absorbed in these 2 groups. Results were not inferior to those in groups Progesterone-I, II, III, and V. The antifibromatogenic threshold quantity of progesterone was thus about 13 to 20 μg.

With 1 pellet of the pure Δ^{11} compound as in group III an absorption of about 100 μg per day was obtained, i.e. absorption rate was considerably smaller than with progesterone: 1·57 μg of Δ^{11} per mm^2/day, against 4·4 μg of progesterone (the average for progesterone is 3·3; see FUENZALIDA[1]; FUENZALIDA and LIPSCHUTZ[2]). The antifibromatogenic effect was identical with that of similar quantities of progesterone. With quantities of the Δ^{11} compound somewhat above the progesterone threshold as in group V, results with the Δ^{11} compound were less secure; there was 1 animal with tumours (see coefficient Q_{2-3}). The nodules "apical" were in this animal not of the common fibroid or desmoid type of oestrogen-induced abdominal tumours but leiomyomata of the mesosalpinx; they were similar to the leiomyoma pictured in Figure 16*A* in LIPSCHUTZ[4] and included Wolffian tubules. The greater resistance of the oestrogen-induced leiomyoma against the Δ^{11} compound is of interest; so far uterine leiomyoma in women has not been made to diminish under the influence of progesterone (SEGALOFF *et al.*[5]).

With quantities beneath the progesterone threshold (group VIII) antifibromatogenic action was somewhat more pronounced with the Δ^{11} compound. However, much stress cannot be laid on this difference on account of the great variation of results in similar experiments; likewise, absorption figures are probably less exact with such small quantities than with larger quantities. Indeed, the difference between Δ^{11}-VIII and the control in IX was very considerable. But again, the tumoral effect in control groups is in general not so great as in the present case; an average of 4 to 5 is the rule.

Elsewhere we have attracted attention to the fact that even with a multiple of the threshold—about the 20-fold in our experiments with progesterone—inhibition of the

[1] C. W. SHOPPEE and T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta *24*, 351 (1941).

[2] P. HEGNER and T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta *26*, 715 (1953).

[3] J. VON EUW and T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta *29*, 654 (1946).

[4] CH. MEYSTRE, E. TSCHOPP, and A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta *31*, 1463 (1948).

[5] K. MIESCHER, Rec. Progr. Horm. Res. *3*, 47 (1948).

[6] A. LIPSCHUTZ and L. VARGAS, Endocrinology *28*, 669 (1941).

[7] A. LIPSCHUTZ, S. BRUZZONE, and F. FUENZALIDA, Cancer Research *4*, 179 (1944). – A. LIPSCHUTZ and M. MAASS, Cancer Res. *4*, 18 (1944).

[8] A. LIPSCHUTZ, *Steroid Hormones and Tumors* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1950), p. 133–135.

[9] A. LIPSCHUTZ, Exper. *2*, 11 (1946).

[10] A. LIPSCHUTZ, R. IGLESIAS, S. BRUZZONE, F. FUENZALIDA, and A. RIESCO, Acta Unio Int. Cancer *6*, 85 (1948).

[11] R. IGLESIAS, A. LIPSCHUTZ, and E. MARDONES, Nature (London) *167*, 235 (1951).

[12] G. MASSON and H. SELYE, J. Pharmacol. Exp. Ther. *84*, 46 (1945).

[1] F. FUENZALIDA, J. Cl. Endocrinol. *10*, 1511 (1950).

[2] F. FUENZALIDA and A. LIPSCHUTZ (in preparation, 1953).

[3] A. LIPSCHUTZ, S. BRUZZONE, and F. FUENZALIDA, Cancer Res. *4*, 179 (1944). – A. LIPSCHUTZ and M. MAASS, Cancer Res. *4*, 18 (1944).

[4] A. LIPSCHUTZ, *Steroid Hormones and Tumors* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1950).

[5] A. SEGALOFF, J. C. WEED, W. H. STERNBERG, and W. PARSON, J. Cl. Endocrinol. *9*, 1273 (1949).

Comparative results with the antifibromatogenic action of progesterone (32 animals) and of Δ^{11}-dehydroprogesterone (30 animals).– 24 animals with progesterone belonging to older work also have been added.

Groups	No. of animals	Steroid per day μg	Fibrous Tumoural Effect[2]	Coefficient[2] Q_{2-3}	Uterine weight gm
Progesterone[1]					
I	4	*284* (255–306)	*1·3* (1–1·5)	0	1·1 (0·5–1·5)
II	6	*144* (126–176)	*1·3* (1–1·5)	0	1·5 (1·1–2·2)
III	5	*92* (83–108)	*1·0* (1–1)	0	1·5 (1·0–2·3)
IV					
V	12	*32* (21–47)	*1·4* 0·5–1·5)	0	2·1 (0·9–2·5)
VI	5	*15* (13–19)	*1·4* (1–1·5)	0	2·5 (1·8–3·1)
VII[4]	12	*15* (13–24)	*1·5* (1·5–1·5)	0	2·9 (1·7–5·1)
VIII[4]	12	*9* (5–12)	*3·6* (1·5–8)	1·0	3·2 (1·9–5·2)
Δ^{11}-dehydroprogesterone[3]					
III	6	*102* (90–106)	*1·3* (1–1·5)	0	1·6 (0·9–2·5)
IV	4	*64* (56–70)	*1·5* (1–2)	0	2·1 (1·6–3·7)
V	8	*32* (27–37)	*1·9* (1–2)	0·25	2·2 (1·4–3·2)
VI					
VII					
VIII	12	*8* (5–12)	*2·3* (0·5–6)	0·3	2·9 (1·7–5·3)
IX	8	*0*	*6·3* (3–11)	2·1	5·1 (2·8–9·8)

[1] 1, ½, and ¼ pellet of pure progesterone in I, II, and III; 1, ½, or ¼ mixed pellet in V to VIII.

[2] A. Lipschutz and M. Maass, Cancer Res. *4*, 18 (1944).

[3] 1 and ½ pellet of pure Δ^{11} compound in III and IV; 3 mixed pellets in V; 1 or 2 mixed pellet in VIII.

[4] These two groups belong to work formerly published (Lipschutz *et al.*, 1944) and are given for comparison. Group VI and VII are coincident as to quantities absorbed per day. It will be seen how greatly actual results coincide with those in experiments made 10 years ago. It may be seen also how satisfactorily our classification though arbitrary is working; classification of results of these older experiments has been made anew and produced the same figures as before: 1·5 instead ot 1·4, and 3·6 instead of 3·4.

fibrous effect is not a complete one (see discussion in Lipschutz[1], p. 133–135). The present results give new evidence as to this (group I). Likewise, complete inhibition was not attained with the maximal quantities of the Δ^{11} compound used (group III).

The comparative action of the two gestagens on the uterus also deserves interest. Progesterone counteracts the oestrogen-induced increase of uterine weight. As the vaginal entrance becomes closed under the influence of progesterone these small uteri may become distended (Iglesias *et al.*[2]; see also Lipschutz[1]). All this occurred also with the Δ^{11} compound.

With reference to the uterine weight the following finding is remarkable. As seen from the table the decrease of the antifibromatogenic effect was with the threshold quantity not smaller than with the largest quantities used; on the contrary, quantities larger than the threshold quantity are necessary to counteract the abnormal increase of the uterine weight. This again applies both to progesterone and to the Δ^{11} compound.

Steroids were very generously supplied by Dr. A. Wettstein, Ciba, Basel (Δ^{11}-dehydroprogesterone); by Drs. A. White, Director of Research, and I. V, Sollins, Director, Chemical Specialities, New York, and Syntex, México (progesterone and oestradiol). Cordial thanks are due to them.

E. Mardones, R. Iglesias, and A. Lipschutz

Department of Experimental Medicine, National Health Service, Av. Irarrázaval 849, Santiago, Chile, April 20, 1953.

[1] A. Lipschutz, *Steroid Hormones and Tumors* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1950).

[2] R. Iglesias, A. Lipschutz, and G. Nieto, Cancer Res. *4*, 510 (1944).

Zusammenfassung

Gleich Progesteron besitzt auch das Δ^{11}-Dehydroprogesteron starke antifibromatogene Wirkung, das heisst die Fähigkeit, die Entwicklung des durch Oestradiol beim Meerschweinchen erzeugten Fibroms der Abdominalserosa zu verhindern. Die hierzu benötigten Mengen des Δ^{11}-Dehydroprogesterons betrugen, wie beim Progesteron, bloss wenige Mikrogramme pro Tag, wenn aus subkutanen Tabletten absorbiert. Die Frage, ob mit der grösseren progestativen Wirkung des Δ^{11}-Dehydroprogesterons auch eine grössere antifibromatogene Wirkung einhergeht, bleibt einstweilen offen. Auch die durch Oestradiol erzeugte abnorme Vergrösserung des Uterus wird wie mit Progesteron so auch mit Δ^{11}-Dehydroprogesteron verringert. Die Absorptionsgeschwindigkeit des Δ^{11}-Dehydroprogesterons ist um mehr als das Doppelte geringer als diejenige des Progesterons.

Die Beeinflussung der Fruktoseaufnahme des isolierten Zwerchfells durch Insulin

Aus folgenden Untersuchungen ergibt sich, dass der Umsatz von Fruktose weniger insulinabhängig ist als derjenige von Glukose:

1. Der oxydative Abbau C^{14}-markierter Fruktose durch Leberschnitte alloxandiabetischer und gesunder Ratten zeigt keinen Unterschied, während die Glukose-

oxydation bei alloxandiabetischen Tieren vermindert ist (CHERNIK und CHAIKOFF[1]).

2. Bei eviszerierten Ratten und normalen Hunden beeinflusst Insulin den Gesamtfruktosegehalt, die Blutfruktosekonzentration und den Gesamtfruktoseumsatz nicht (CORI und CORI[2], WIERZUCHOWSKI und PIESKOW[3], PLETSCHER und HESS[4], WIERZUCHOWSKI, PIESKOW und OWSIANI[5]).

3. Bei diabetischen Menschen und pankreatektomierten Hunden wird Fruktose besser verwertet als Glukose (ROOT, STOTZ und CARPENTER[6], CRAIG und Mitarbeiter[7], LEUBNER und GABL[8], PLETSCHER, FAHRLÄNDER und STAUB[9], STRAUSS und HILLER[10], WEINTRAUT und LAVÈS[11], VERZÁR[12], PLETSCHER und HESS[4]).

Die geringe Insulinabhängigkeit der Fruktose ist wahrscheinlich dadurch erklärt, dass die Fruktosephosphorylierung durch 2 Fermente (Hexokinase und Ketokinase), die Glukosephosphorylierung lediglich durch Hexokinase beschleunigt wird (CORI und SLEIN[13], LEUTHARDT und TESTA[14], STAUB und VESTLING[15]). Die Hexokinasewirkung wird durch Insulin beeinflusst (PRICE, CORI und COLOWICK[16]). Der wenig oder nicht gestörte Fruktoseumsatz bei Insulinmangel (siehe oben) spricht für Insulin-Unabhängigkeit der Ketokinase.

Die zitierten Experimente wurden an Leberschnitten oder an ruhenden Menschen und Tieren ausgeführt. Ziel der vorliegenden Arbeit war, Anhaltspunkte über die Wirkung von Insulin auf den Fruktosestoffwechsel der Muskulatur zu erhalten.

1. *Methodik.* Messung der Insulinwirkung modifiziert nach GEMILL und Mitarbeiter[17], und des Glykogengehaltes der Zwerchfelle modifiziert nach PFLÜGER[18] und PARNAS[19]: Bei 100–120 g schweren nüchternen männlichen Ratten vom gleichen Stamm wurden nach Dekapitation beide Zwerchfellhälften mit einem Irismesser entnommen und in eisgekühlter Pufferlösung nach KREBS und HENSELEIT gewaschen (pH nach Durchströmung mit 95% O_2 und 5% CO_2 = 7,4). Doppelansätze (I und II) von je 2,3 oder 4 Zwerchfellhälften gleicher Tiere in 2–4 ml Puffer mit 200 mg% Fruktose wurden mit und ohne Insulin («Vitrum») in O_2/CO_2 Atmosphäre 90′ lang geschüttelt (Frequenz 200/min). Entsprechende Doppelansätze ohne Insulin dienten als Kontrollen. Zuckerbestimmung der Inkubationsflüssigkeit am Anfang und Ende des Versuches nach HAGENDORN-JENSEN, Berechnung der verschwundenen Zuckermenge auf 100 mg Zwerchfellfrischgewicht (nach Trocknen mit hartem Filtrierpapier). Vergleichende Untersuchungen mit 200 mg% Glukose in der Inkubationsflüssigkeit. Glykogenbestimmung: Die Zwerchfellhälften wurden nach beendigter Inkubation mit Fruktosepuffer in 2,7 ml eisgekühltem destilliertem Wasser homogenisiert (Glashomogenisator nach POTTER) und je Ansatz 2mal 1 ml Homogenat 1 h lang mit je 1 ml 60% KOH im Wasserbad gekocht. Fällung des Glykogens mit 2 ml heissem Wasser und 4 ml 96% Alkohol, Abzentrifugieren nach 3–4 Stunden und Auswaschen mit 2 ml 60-, 2 ml 80-, 2mal 2 ml 96% Alkohol und 2 ml Äther. Invertierung nach NERKING[1] durch Kochen mit 5 ml 2,2% HCl im Wasserbad. Bestimmung der Glukose nach HAGENDORN-JENSEN im ganzen Hydrolysat nach Erkalten und Neutralisation mit 2% NaOH (gegen Methylorange). Berechnung des Glykogengehaltes auf 100 mg Gesamt-N (Bestimmung nach KJELDAHL).

2. *Resultate.* Tabellen 1–3: Zuckerverbrauch und Glykogenbildung von Zwerchfellhälften gleicher Tiere mit und ohne Insulin (II und I).

a) *Glukose- und Fruktoseaufnahme ohne Insulinzusatz* (Tab. I und II). Es wurde in allen Versuchen mehr Glukose aufgenommen als Fruktose. Der Unterschied ist signifikant ($p < 0{,}01$).

Tabelle I
Zuckerverbrauch mg/100 mg Zwerchfell

Ohne Insulin I	10^{-2} Eh Insulin II	Differenz (II – I) mg/100 mg Zwerchfell	%
0,435	0,54	0,105	23
0,32	0,52	0,20	62
0,38	0,25	– 0,13	–34
0,12	0,25	0,13	108
0,31	0,50	0,19	61
0,34	0,475	0,135	39
0,25	0,66	0,41	116
0,345	0,405	0,06	17
0,38	045	0,07	18
0,405	0,55	0,145	35
0,40	0,485	0,085	21
0,44	0,52	0,08	18
0,42	0,51	0,09	21
0,29	0,425	0,135	46
0,295	0,405	0,110	37
0,244	0,399	0,155	63
0,215	0,37	0,155	72
0,25	0,345	0,095	38
0,19	0,31	0,120	63
0,205	0,335	0,130	63
0,28	0,425	0,145	51
0,325	0,36	0,035	10
0,38	0,48	0,10	26
0,35	0,435	0,085	24
0,36	0,375	0,015	4
0,225	0,525	0,300	133
0,295	0,345	0,05	17
0,225	0,32	0,095	42
0,325	0,54	0,215	66
Mittelwert: 0,310 ± 0,015[2]	0,431 ± 0,018	0,121 ± 0,017	40,0

[1] J. NERKING, Pflügers Arch. *85*, 320 1901).
[2] Mittlere quadratische Abweichung.

[1] S. S. CHERNIK und I. L. CHAIKOFF, J. biol. Chem. *188*, 389 (1951).
[2] G. T. CORI und C. F. CORI, Proc. Soc. exper. Biol. Med. *26*, 432 (1929).
[3] M. WIERZUCHOWSKI und W. PIESKOW, Acta biol. exper. (Warschau) *5*, 95 (1930); ref. Ber. Physiol. *61*, 676 (1931).
[4] A. PLETSCHER und W. HESS, Helv. physiol. Acta *9*, 338 (1951).
[5] M. WIERZUCHOWSKI, W. PIESKOW und E. OWSIANY, Biochem. Z. *230*, 146 (1931).
[6] H. F. ROOT, E. STOTZ und T. M. CARPENTER, Amer. J. Med. Sci. *211*, 189 (1946).
[7] J. W. CRAIG, W. R. DRUCKER, M. MILLER, J. E. OWENS, H. WOODWARD, B. BROFMANN und W. H. PRITCHARD, Proc. Soc. exper. Biol. Med. *78*, 698 (1951).
[8] H. LEUBNER und F. GABL, Wien. Z. inn. Med. *29*, 545 (1948).
[9] A. PLETSCHER, H. FAHRLÄNDER und H. STAUB, Helv. physiol. Acta *9*, 46 (1951).
[10] E. STRAUSS und J. HILLER, Ärztl. Forsch. *6*, I/326 (1952).
[11] W. WEINTRAUT und E. LAVÈS, Z. physiol. Chem. *19*, 603, 629 (1894).
[12] F. VERZÁR, Biochem. Z. *66*, 75 (1914).
[13] G. T. CORI und M. W. SLEIN, Fed. Proc. (Am.) *6*, 245 (1947).
[14] F. LEUTHARDT und E. TESTA, Helv. chim. Acta *33*, 1919 (1950); *34*, 931 (1951).
[15] A. STAUB und C. S. VESTLING, J. biol. Chem. *191*, 395 (1951).
[16] W. H. PRICE, C. F. CORI und S. P. COLOWICK, J. biol. Chem. *160*, 633 (1945).
[17] C. L. GEMILL und L. HAMMAN, Bull. Johns Hopkins Hosp. *68*, 50, 329 (1941).
[18] E. PFLÜGER, Pflügers Arch. *96*, 1 (1903).
[19] J. K. PARNAS, Biochem. Z. *116*, 71 (1921).

b) *Beeinflussung der Fruktoseaufnahme durch Insulin* (Tab. I).

Zwerchfellhälften gleicher Tiere ohne Insulinzusatz zeigten einen Unterschied der Fruktoseaufnahme von 0,026 ± 0,014. Die Vermehrung der Fruktoseaufnahme durch Insulin ist signifikant ($p < 0{,}001$).

c) *Beeinflussung der Glukoseaufnahme durch Insulin* (Tab. II).

Tabelle II
Zuckerverbrauch mg/100 mg Zwerchfell

Ohne Insulin I	10^{-2} Eh Insulin II	Differenz (II – I) mg/100 mg Zwerchfell	%
0,52	0,808	0,28	53
1,31	1,64	0,33	25
0,89	1,28	0,39	43
0,73	1,00	0,27	37
0,87	1,16	0,29	33
0,96	1,34	0,38	39
0,99	1,32	0,33	33
0,80	1,21	0,41	51
1,22	1,46	0,24	19
1,20	1,46	0,26	21
1,04	1,44	0,40	39
Mittelwert: 0,95 ± 0,069	1,28 ± 0,071	0,325 ± 0,059	36

Zwerchfellhälften gleicher Tiere ohne Insulinzusatz zeigten einen Unterschied der Glukoseaufnahme von 0,025 ± 0,035. Die Vermehrung der Glukoseaufnahme durch Insulin ist signifikant ($p < 0{,}001$).

d) *Glykogengehalt der Zwerchfelle* (Tab. III).

Tabelle III

Ohne Insulin mg/100 mg N I	10^{-2} Eh Insulin mg/100 mg N II	Differenz (II – I) mg/100 mg N
5,29	5,72	+0,43
4,69	6,19	+1,50
5,25	5,95	+0,70
4,67	6,47	+1,80
6,70	6,96	+0,26
9,45	12,60	+3,15
6,52	7,68	+1,16
6,62	10,40	+3,78
8,86	11,60	+2,74
		Mittelwert: +1,72 ± 0,21

Zwerchfellhälften gleicher Tiere ohne Insulinzusatz zeigten einen Unterschied des Glykogengehaltes von 0,32 ± 0,035. Die Vermehrung des Glykogengehaltes durch Insulin ist signifikant ($p < 0{,}001$).

3. *Diskussion.* Im Vergleich zu Glukose verminderte Aufnahme von Fruktose durch isoliertes Rattenzwerchfell, Leber- und Hirnschnitte konnte auch von Gemill und Hamman[1] sowie Helmreich, Stuhlfauth und Goldschmidt[2] beobachtet werden. Die geringere Fruktoseaufnahme kann bedingt sein durch langsamere Diffusion oder durch primär verminderten enzymatischen Umsatz der Fruktose im Vergleich zu Glukose. Nach Wilbrandt[1] diffundiert Fruktose langsamer durch die Membran menschlicher Erythrozyten als Glukose und andere Aldohexosen. Anderseits wird möglicherweise in der Muskulatur die Fruktosephosphorylierung vorwiegend durch Hexokinase, welche geringere Affinität zu Fruktose besitzt als zu Glukose, beschleunigt (Slein, Cori und Cori[2], Meyerhof und Wilson[3], Wiebelhaus und Lardy[4]). Es kann durch unsere Versuche nicht entschieden werden, auf welchem Mechanismus das verschiedene Verhalten von Glukose und Fruktose beruht. Der Befund steht im Widerspruch zu Beobachtungen an Mensch und Tier, wo Fruktose rascher umgesetzt wird als Glukose. Möglicherweise kommen Diffusionseffekte *in vivo* weniger zur Geltung als *in vitro*, da die Zucker durch die Blutbahn rasch an die Zellen des gesamten Organs herangebracht werden.

Insulin bewirkt am isolierten Zwerchfell gleiche prozentuale Erhöhung von Fruktose- und Glukoseaufnahme. Die Fruktosemehraufnahme ist, sicher teilweise, durch vermehrten Fruktoseumsatz bedingt, da mit Insulin der Glykogengehalt des Zwerchfells grösser ist als ohne Insulin. Diese Feststellung steht im Widerspruch zur geringen Insulinempfindlichkeit des Fruktosestoffwechsels bei Mensch und Tier und kann eventuell folgendermassen erklärt werden:

a) Insulin beschleunigt die Fruktosediffusion, wobei Diffusionsunterschiede *in vivo* weniger zur Geltung kommen als *in vitro* (siehe oben). Gegen diese Auffassung sprechen Befunde von Goldstein und Mitarbeitern[5], wonach Diffusion von Fruktose bei eviszerierten, nephrektomierten Tieren durch Insulin nicht beschleunigt wird.

b) Möglicherweise wird der Fruktoseumsatz im Zwerchfell vorwiegend durch die insulinabhängige Hexokinase gesteuert, im Gegensatz zur Leber, wo die wahrscheinlich insulinunabhängige Ketokinase überwiegt.

Der Wirkungsmechanismus des Insulins auf die Fruktoseaufnahme durch isoliertes Rattenzwerchfell muss durch weitere experimentelle Untersuchungen abgeklärt werden.

P. von Planta und A. Pletscher

Medizinische Universitätsklinik Basel, den 28. April 1953.

Summary

The effect of insulin on the absorption of glucose and fructose, as well as the formation of glycogen from fructose, was studied in the isolated diaphragm of the rat.

Results: 1. In the absence of insulin more glucose was taken up by the diaphragm than fructose.

2. Insulin increases the absorption of glucose and fructose as well as the synthesis of glycogen from fructose. The percentage increase of absorption of glucose and fructose remained unchanged.

[1] C. L. Gemill und L. Hamman, Bull. Johns Hopkins Hosp. *68*, 50, 329 (1941).

[2] E. Helmreich, K. Stuhlfauth und S. Goldschmidt, Z. Naturforsch. *7b*, 418 (1952).

[1] W. Wilbrandt, Pflügers Arch. *241*, 302 (1939).

[2] M. W. Slein, G. T. Cori und C. F. Cori, J. biol. Chem. *186*, 763 (1950).

[3] O. Meyerhof und J. R. Wilson, Arch. Biochem. *19*, 502 (1948).

[4] V. D. Wiebelhaus und H. A. Lardy, Arch. Biochem. *21*, 321 (1949).

[5] M. S. Goldstein, L. Henry, B. Huddlestun und R. Levine, Fed. Proc. *11*, 56 (1952).

PRO EXPERIMENTIS

Exakte Färbmethode für Farbversuche

Für die Aufstellung eines Farbkreises benötigten wir ein rasch und sicher arbeitendes Verfahren zur Bereitung einer grossen Anzahl feinst abgestufter Farbmuster. Am einfachsten schienen Tauchfärbungen auf Papier, da sich Farbstofflösungen in jedem Verhältnis mischen und mit Hilfe von Büretten und dergleichen leicht dosieren lassen.

Wie schon OSTWALD verwandten wir zunächst ungeleimtes weisses Papier (Becherkarton Nr. F 2345, Papierfabrik Balsthal) in Form von 8 cm breiten und 35 cm langen Streifen, die wir durch auf 60° vorgewärmte, neutrale, wässerige Lösungen saurer Farbstoffe zogen und im Trockenschrank bei 70° trockneten. Auf diese Weise stellten wir einen über 400teiligen Farbkreis her, der als Grundlage für unser besonderes Teilungsverfahren diente[1]. Der Wunsch nach möglichst reinen Färbungen zwang zur Verwendung zum Teil recht unechter Farbstoffe. Ihre Echtheit auf Papier ist besonders gering, da sie keine eigentliche Bindung mit der Zellulosefaser eingehen. Sehr störend erwies sich die Wasserempfindlichkeit, beobachteten wir doch beträchtliche Farbtonverschiebungen, besonders im violetten Gebiet, in Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit.

Diese Schwierigkeit verschwindet, wenn man das Papier mit einer Gelatineschicht versieht und es im angesäuerten Bad ähnlich wie Wolle färbt. Nun tritt echte Färbung ein, und die Farbstoffkonzentration kann gegenüber Tauchfärbungen auf etwa 1/10 erniedrigt werden.

Die Erzielung egaler Färbungen erfordert eine Reihe von Vorsichtsmassregeln. Um eine homogene Gelatineschicht zu erzielen, liessen wir uns von der Typon AG. für photographische Industrie auf einem speziellen mattweissen[2] Photokarton von 240 g/m² maschinell eine Schicht auftragen, die neben 15 g/m² Gelatine noch 12 g/m² Reißstärke zur Mattierung enthielt und mit Formalin gehärtet war.

Genauestes Innehalten der Färbebedingungen ist unerlässlich. Zum Färben benutzten wir eine Kristallisierschale von 22 cm Durchmesser. Die einer Präzisionsbürette (100 cm³) bzw. -pipette entnommene Farbstofflösung wird im Messkolben nach Zusatz von 2 cm³ 6%iger Schwefelsäure und 10 cm³ 6%iger Glaubersalzlösung auf 200 cm³ verdünnt und in der mit einem Uhrglas bedeckten Kristallisierschale in einem mittels Thermostats konstant auf 75° gehaltenen Wasserbad erwärmt. Nach 12 min erreicht die Temperatur der Färbelösung 69° und steigt innerhalb der nächsten 15 min nicht über 70°. Man benützt dieses Intervall zum Färben, legt das Papier der Grösse 11,5 × 17,4 cm = 200 cm² für genau 10 min ein und bewegt die bedeckte Schale durch leichtes Neigen nach allen Seiten. Anschliessend spült man ½ min in kaltem, destilliertem Wasser, fliesst zwischen Filtrierpapier ab und lässt an der Luft trocknen.

Die Reproduzierbarkeit dieses Verfahrens erwies sich als so gut, dass von den mit dem Hardy-Spektrophotometer ausgemessenen Remissionskurven einer 5fach wiederholten Ausfärbung nur eine sichtbare Abweichungen aufwies.

Für die Herstellung unseres neuen, möglichst gesättigten Farbkreises war zunächst die minimale Zahl der erforderlichen Farbstoffe festzustellen. OSTWALD benützte für seine Zwecke 7 saure Farbstoffe[1]. Wir überzeugten uns aber davon, dass sich bei den Mischversuchen der Abstand benachbarter Farbtöne als zu gross erweist und die Sättigung der Mischfarben, meist unter mehr oder weniger deutlicher Schwärzung, abnimmt. Auch das grosse Intervall zwischen gelben und blaugrünen Färbungen kann nur unter einer gewissen Entsättigung der grünen Mitteltöne überbrückt werden. Hier schalteten wir ein aus den Komponenten ermischtes, konzentriertes Zwischengrün ein. Die von uns verwendeten sauren Farbstoffe gehören zur Klasse der Azofarbstoffe (Az), der Triphenylmethanfarbstoffe (T), der Antrachinonfarbstoffe (An) und der Chinolinfarbstoffe (C).

Nach dem Farbkreis geordnet waren es die zwölf folgenden:

I Chinolingelb (C)
II Tartrazin (Az)
III Orange II (Az)
IV Papierrot PSNR (Az)
V Fullacidrot 3B (Az)
VI Alizarinechtrubin 4B (An)
VII Brilliantalizarinechtviolett 6R (An)
VIII Säureviolett 5B (T)
IX Brilliantsäureblau G (T)
X Kitonblau AR (T)
XI Benzylgrün B (T)
XII Kitonechtgrün V (T)

Die vier ersten Vertreter wurden schon von OSTWALD empfohlen. Trotz der vielen bekannten Farbstoffe ergibt die systematische Erprobung noch auffällige Lücken im Farbkreis.

Von den 12 Grundfarbstoffen sowie vom Zwischengrün (XIII) wurden Verdünnungsreihen ausgefärbt unter geometrischer Abnahme der Konzentration um den Faktor 0,75. Bei einer Ausgangskonzentration von 0,6 g Farbstoff/Liter der Färbelösung war nach 30 Verdünnungen die Farbe des reinen Papiers nahezu erreicht, meistens konnten wir uns jedoch mit 20 Stufen begnügen (vgl. Abb. 3).

Interessant ist der Vergleich zwischen Verdünnungsreihe und Erschöpfungsreihe. Letztere kommt durch wiederholtes Färben von neuen Papierstücken in den jeweils verbleibenden Restbädern zustande. Die Farbtiefe nimmt dabei je nach dem Aufzugsvermögen in grösseren oder kleineren, nicht konstanten Stufen ab, entsprechend Verdünnungen um Faktoren von 0,3 bis 0,9. Der Farbton bleibt bei einheitlichen Farbstoffen in beiden Reihen übereinstimmend, während sich Gemische, auch Isomerengemische, meistens durch Farbtonverschiebungen zwischen konzentrationsgleichen Erschöpfungs- und Verdünnungsstufen zu erkennen geben.

Zur Festlegung des farbigen Eindrucks der Ausfärbungen haben wir verschiedene Wege beschritten. Hier seien nur zwei angeführt, ein mehr überschlagsmässiger einerseits, ein exakterer andererseits.

Zunächst bestimmten wir mit dem Stufenphotometer von ZEISS und der K-Filter-Serie Remissionsminimum und -maximum der Ausfärbungen. Trägt man diese auf Bariumsulfat als Standardweiss[2] bezogenen Werte log-

[1] K. MIESCHER, Helv. physiol. Acta *6*, C 12–13 (1948); Verhandl. Schweiz. naturforsch. Ges. *1949*, 125; Chimia *3*, 243 (1949).

[2] Mit leichtem Gelbstich, siehe Abbildungen 2 *a*, *b* und 3.

[1] Siehe zum Beispiel W. OSTWALD, *Physikalische Farbenlehre*, Bd. 2, 2. Aufl. (Verlag Unesma, Leipzig 1923), S. 249; *Farbkunde, Chemie und Technik der Gegenwart* (Verlag S. Hirzel, Leipzig 1923), S. 234. Für entsprechende Angaben aus dem Wilhelm-Ostwald-Archiv in Grossbothen, Sachsen (Frl. GRETHE OSTWALD), sind wir besonders dankbar.

[2] K. MIESCHER und R. ROMETSCH, Exper. *6*, 302 (1950).

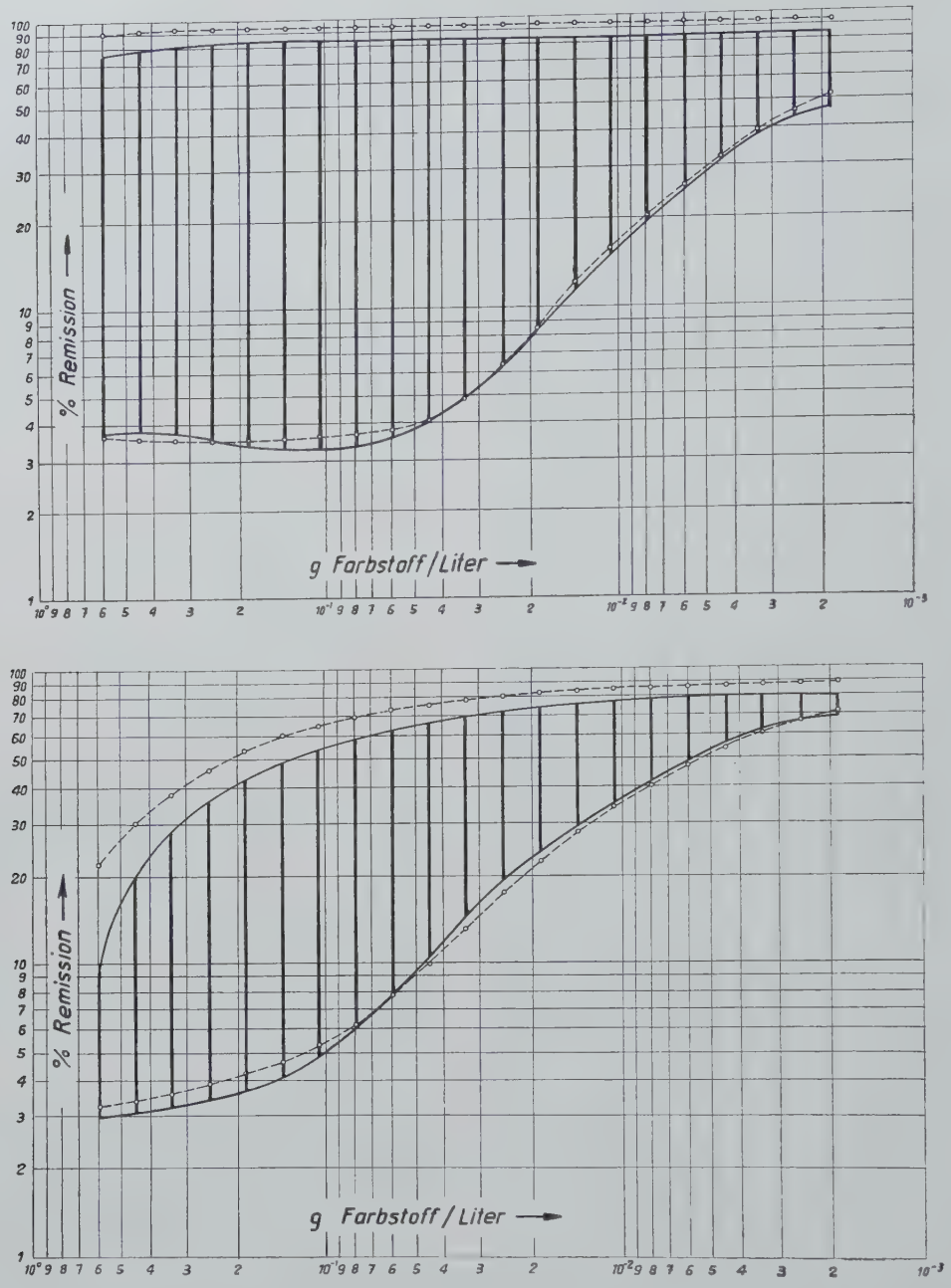


Abb. 1*a* und *b*. Remissionsminima und Maxima der Verdünnungsstufen von *Papierrot PSNR* (*a*) und *Kitonechtgrün V* (*b*). Ausgezogene Kurven: Messung mit Zeißschem Stufenphotometer. Gestrichelte Kurven: Messung mit Hardy-G.E.-Spektrophotometer. (Der grössere Durchlassbereich der Stupho-Filter gegenüber dem Monochromator des Spektrophotometers bedingt systematische Unterschiede zwischen den beiden Messungen; unterhalb etwa 5% Remission treten Fehler an beiden Instrumenten auf.)

arithmisch auf, so erhält man ein gutes Bild des Farbverlaufs (Abb. 1). Die Länge der senkrechten Stäbe, der Verbindungslinie von Minimum und Maximum, gibt nämlich ein ungefähres Mass für die Sättigung, die obere Lücke für den Schwarzanteil und die untere für den Weissanteil der betreffenden Farbe[1]. Wie schon Ostwald bemerkte, ist der Unterschied zwischen kalten und warmen Farben beträchtlich. Einem Minimum von etwa 4% entspricht ein Remissionsmaximum gelber und roter Farben von über 90%, Blau und Grün hingegen erreichen bestenfalls als 40–50%, entsprechend einem «natürlichen» Schwarzgehalt (nach Ostwald) von etwa 50%.

Später gingen wir dazu über, sämtliche Verdünnungsstufen mit dem selbstregistrierenden Spektrophotometer nach Hardy auszumessen und die erhaltenen Remissionskurvenscharen (in Abbildung 2 für Papierrot PSNR und Kitonechtgrün V wiedergegeben) nach der Auswahlordinatenmethode zu integrieren. Die für Normalbeleuchtung E erhaltenen trichromatischen Normfarbwerte sind in Abbildung 3 durch Eintragen in ein rechtwinkliges IBK.-Dreieck dargestellt. Man ersieht daraus, dass in keiner der Verdünnungsreihen der Farbton im

[1] K. Miescher, Z. Sinnesphysiol. *57*, 101 (1925); Z. techn. Physik *11*, 233 (1930).

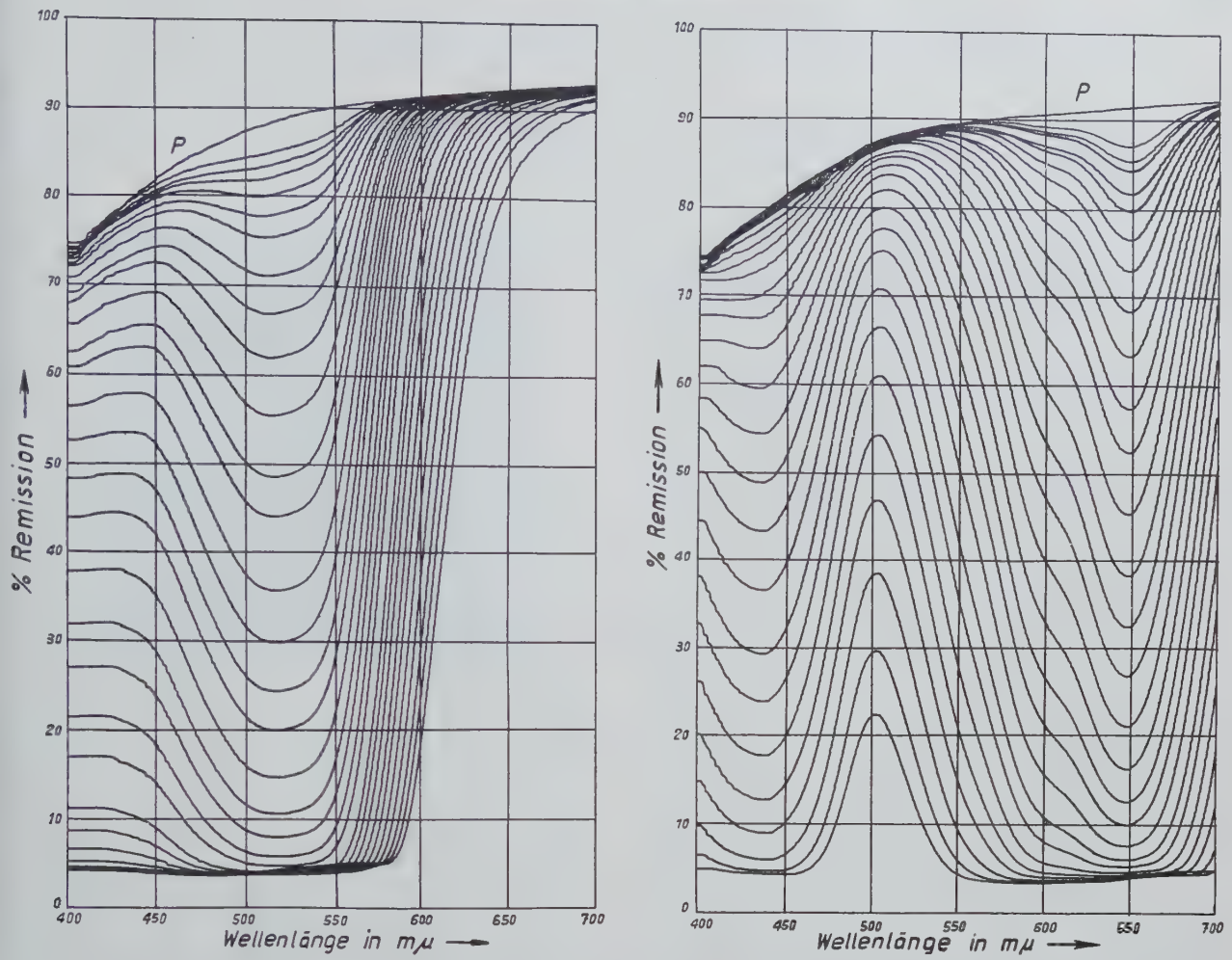
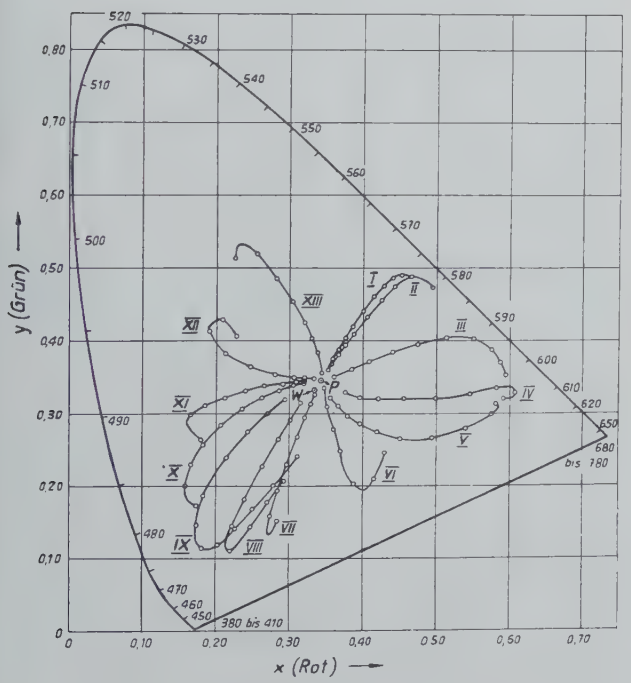


Abb. 2*a* und *b*. Remissionskurven der Verdünnungsstufen von *Papierrot PSNR* (*a*) und *Kitonechtgrün V* (*b*). *P* = Kurve des gelatinierten Papiers vor dem Färben.



reizmetrischen Sinne konstant bleibt. Konzentrierte Ausfärbungen, besonders kalter Farben, sehen schwärzlich aus; bei der Verdünnung werden die Färbungen stets heller, die Sättigung nimmt bis zu einem Maximum zu, dann unter Eintritt von Verweisslichung wieder ab (siehe auch Abb. 1*b*).

Über weitere Darstellungs- und Bezeichnungsweisen der Farben, besonders über die Ergebnisse unserer Kreisteilung, werden wir im Zusammenhang später berichten.

R. Rometsch und K. Miescher

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 1. Juni 1953.

Summary

For large scale colour experiments a standard dyeing process has been developed using acid dyes and white paper coated on one side by a layer of gelatine. Graphical methods to specify the colour are being used.

Abb. 3. Farborte im IBK.-Dreieck der Verdünnungsstufen von 12 Grundfarbstoffen (I bis XII) und von Zwischengrün (XIII), bezogen auf Normalbeleuchtung E. Verdünnungsfaktor 0,75 (nur jede 2. Stufe ist auf den Verdünnungskurven als Punkt hervorgehoben). *W* = Weisspunkt der Normalbeleuchtung E. *P* = Farbort des ungefärbten Papiers.

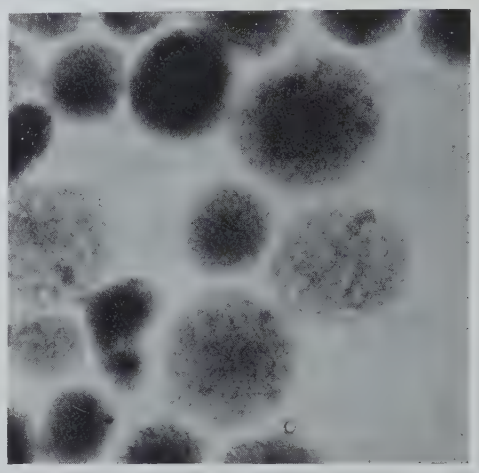
A Method for the Electronmicroscopy of Tissue Mast-Cells

It is generally concluded nowadays that the heparin in the animal organism is stored and probably also formed in the mast-cells. Considerable work has been done to make clear the cytochemistry of these cells. Besides heparin and heparin-monosulphuric acid and/or other heparinprecursors, the presence of quite a number of substances in the mast-cells has been shown, as well as an absence of other substances normally occuring in cells A review of these investigations has recently been given[1].

In examining fresh peritoneal smears from rat or mouse with a phase-contrast microscope, numerous mast cells appear with densely packed, luminous granules. With toluidin blue the granules are metachromatically stained. In respect to osmosis, the granules react in a manner similar to that of the mitochondria[2]. If the cells are suspended in distilled water, the granules suddenly swell and lose their brilliancy. In such cells the intergranular cytoplasma is also metachromatically stained, and obviously the heparin has been dissolved from the granules. The granules of the mastcells can thus be considered as a specialized heparin-carrying type of mitochondria.

Nothing is known of the submicroscopic morphology of the mastcells. It thus seemed to us of interest to develope a method for electronmicroscopic examination of these cells. As experimental animals, rats were chosen, as it is very easy to obtain mast-cells from the peritoneum of these animals, and furthermore rat mastcells are rather resistant to manipulations. The mastcells were isolated in the following way: The animals were killed by a blow on their skull, their abdomen was opened and a few drops of physiological saline were dropped on the peritoneum. The peritoneal surface was cautiously scraped with a micropipette and the fluid, rich in peritoneal cells, was then withdrawn.

For the continued preparation we used a modification of the methods for obtaining blood cell preparations for electron microscopical examinations[3]. A glass slide is dipped in a solution of polyvinylformaldehyde, so-called formvar, to obtain a thin coating on the glass. This formvar film can easily be loosened and transferred first to a water surface and then from there to another slide on which is placed a specimen screen for electron microscopy. After drying, the screen lies between the glass and the formvar film. The cell suspension is then expressed onto the formvar film covering the specimen screen and in a few minutes the mast-cells have settled and adhered to the film. Erythrocytes, which are present in the suspension in great numbers, are easily washed away with physiological saline. After fixation in different fixatives the preparations are dried in air and then shadowed with Pt + Pd, and examined in a Siegbahn-Schönander electron microscope. This method offers the advantage that the preparations can be examined as well in the light—as in the electron microscope.



Granules from a mast-cell of a rat mesenterium. Some of the granules are too thick to be penetrated, but others have swollen and become thinner, thus bringing out an internal structure. Electronmicrograph. The preparation has been treated with distilled water. Shadowed with Platinum/palladium. Magnification 10000 ×.

The majority of the mast-cells are very dense and transmit the electron rays in their perifery only. Occasional cells however, stretch considerably on the film and become thin enough to permit a closer study even of their central parts. Thus pictures have been taken of the nucleus and nucleolus of such cells. The granules (Fig.) are as a rule completely electron-impermeable, their size varies from 0·5–1·0 μ. Granules that have taken up water, however, and become swollen to twice this diameter, permit the passage of the electron ray and intragranular structures are observed. These may represent the granule-skeleton of lipoid-protein which has been postulated by Zollinger[1].

A detailed report of the electronmicroscopical findings in the present investigation will be published elsewhere.

G. Bloom and U. Friberg

Department of Histology, Karolinska Institutet, Stockholm 60, Sweden, March 1, 1953.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur elektronenoptischen Prüfung der peritonealen Mastzellen der Ratte beschrieben. Bestimmte elektronenmikroskopische Beobachtungen an diesen Zellstrukturen werden aufgezeigt.

[1] U. Friberg, W. Graf, and B. Åberg, Acta Path. Microbiol. Scandinav. *29*, 197 (1951).

[2] H. V. Zollinger, Exper. *6*, 384 (1950).

[3] M. Bessis, Blood *5*, 1083 (1950). – M. Bernhard, H. Braunsteiner, H. L. Febre, and J. Harel, Presse méd. *58*, 472 (1950). – J. Rebuck, Amer. J. Clin. Path. *19*, 217 (1949).

[1] H. V. Zollinger, Exper. *6*, 384 (1950).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

La Géologie

Par André Cailleux

(*Collection Que sais-je ?*)

128 pages, 13 figures et 26 tableaux
(Presses Universitaires de France, Paris 1952)

Les Roches

Par André Cailleux

(*Collection Que sais-je ?*)

128 pages, 15 figures et 29 tableaux
(Presses Universitaires de France, Paris 1952)

Dans le premier de ces ouvrages, l'auteur donne une vue d'ensemble, et néanmoins précise, de la géologie, en la situant dans le cadre des disciplines voisines et en indiquant, à côté des données classiques, les perspectives nouvelles. De nombreux tableaux synoptiques, avec valeurs numériques, illustrent notamment l'échelle chronologique, la place de la terre dans l'univers et parmi les planètes, sa constitution générale, la classification des animaux et des végétaux actuels et fossiles, les phénomènes géologiques et notamment les éboulis et éboulements, dunes et dépôts nivéo-éoliens, coulées boueuses, écoulements liquides en nappe, rivières d'érosion et de sédimentation, principaux types d'éruptions volcaniques, granitisation, plissements, styles tectoniques, transgressions et régressions, tremblements de terre. L'histoire de la terre est illustrée par les séries stratigraphiques comparées de régions classiques, mais aussi de régions d'habitude négligées dans les manuels élémentaires, comme le Brésil et l'Indonésie. Le dernier chapitre, consacré à l'homme fossile, montre les étapes de la formation du corps humain, celles des manifestations progressives de l'esprit humain et de l'accélération démographique. La notion d'accélération et de surexpansion, si sensible à l'heure actuelle, est inscrite d'après M. A. Cailleux dès les origines.

Le deuxième ouvrage contient un bref résumé des notions fondamentales sur les minéraux des roches (avec tableaux de propriétés, tant macroscopiques que microscopiques) et les principaux types de roches magmatiques, sédimentaires et métamorphiques. Des tableaux fournissent les valeurs numériques des compositions chimiques et des fréquences relatives. Cet ouvrage fournit la définition des propriétés physiques, chimiques et mécaniques usuelles (granulométrie, résistance à l'écrasement, conductibilité, etc.), utiles à l'ingénieur, au tectonicien et au géophysicien; les valeurs numériques sont données dans des tableaux synoptiques évitant ainsi au lecteur de se reporter aux publications originales souvent fort dispersées. Un aperçu des applications pratiques termine l'ouvrage.

L'auteur, déjà très connu par la fécondité et la diversité de sa production scientifique – on lui doit des travaux importants dans des domaines de la géomorphologie (méthodes granulométriques, etc.), de la géologie (extension des plissements précambriens, etc.) et de la pétrographie (formes flammulées) –, fait œuvre dans ces deux petits ouvrages de vulgarisateur expérimenté. Mais encore plus, certaines pages dénotent une pénétration si frappante (par exemple celles sur la radioactivité des roches ainsi que beaucoup d'autres) qu'elles pourront être lues avec grand intérêt même par des spécialistes.

M. Matschinski

The Exact Sciences in Antiquity

By O. Neugebauer

191 pages, 30 figures, and 14 tables
(Munksgaard, Copenhagen, 1951)

Zur Geschichte der exakten Wissenschaften der klassischen Antike haben schon die grossen Forscher des neunzehnten Jahrhunderts, die Tannery, Zeuthen, Heiberg u. a., die wesentlichen Beiträge geliefert. Im vorliegenden Werk gibt der anerkannte Meister der vorgriechischen Mathematik einen Querschnitt durch die ägyptobabylonische Mathematik und Astronomie sowie deren Nachwirkungen im Hellenismus. Auch für die Historiker der exakten Wissenschaften beginnt sich damit das Bild der gesamten Antike abzurunden, welches die von den Kulturgeschichtlern schon längst vermutete Untergrundbewegung der babylonischen Wissenschaft im Zeitalter des Hellenismus noch weiter präzisiert.

Der Verfasser geht zwar auf das einzelne hieroglyphische und keilschriftliche Textmaterial ein, aber weniger um des Details als um der philologischen Forschungsmethodik willen, welche ihm als Mathematiker nicht fremd, sondern im Gegenteil ein besonderes Anliegen ist, nachdem er es unternommen hat, als erster die bahnbrechenden Untersuchungen von Epping S. J. und Kugler S. J. über die babylonische Astronomie weiterzuführen. Im Mittelpunkt der Darstellung stehen freilich die historischen Analysen der ägyptischen Bruchrechnung und astronomischen Chronologie, des babylonischen Sexagesimalsystems und der Gleichungslehre zweiten und höheren Grades. Babylonische Mondrechnung und ihre Anwendung auf die Identifizierung und Zusammengehörigkeit von Tabellentexten und graphische Darstellung von Planetenephemeriden sind zentrale Probleme der Erforschung der Mathematik des alten Orients. Der Verfasser vergisst nicht, die hellenistischen Quellen auch der arabischen Wissenschaft mit ihren Fernwirkungen nach Indien anzuführen.

J. O. Fleckenstein

Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas

Von Georg Tischler

263 Seiten
(Dr. W. Junk, Publishers, The Hague, 1950)
(hfl. 42.50)

Die Untersuchung der Chromosomenzahlen als wesentliches Hilfsmittel systematischer Forschung wurde in den letzten Jahrzehnten in immer breiterem Umfang durchgeführt; in England und Skandinavien, in kleinerem Rahmen auch anderwärts, erschienen bereits entsprechende Kataloge. So ist es höchst dankenswert, dass der Altmeister karyologischer Forschung, Prof. G. Tischler, sich nun entschlossen hat, eine Zusammenstellung der bisher aus Mitteleuropa bekanntgeworde nen Chromosomenzahlen vorzulegen. Allerdings ist dieser Bereich etwas eng umgrenzt; so vermissen wir vor allem die Schweiz (deren Berücksichtigung die «Aufnahme zu vieler west- oder südeuropäischer Arten» bedingt hätte), wiewohl doch hier an einigen Stellen, wie in Neuchâtel, sehr lebhaft an der Erforschung solcher Daten gearbeitet wird.

Bei der Anordnung der Arten innerhalb der Gattung wurden weitgehend karyologische Momente in den Vordergrund gestellt, so dass im allgemeinen die diploiden Spezies vor den polyploiden rangieren. Damit wird verständlicherweise nicht in jedem Fall etwa eine natürliche Verwandtschaft angezeigt; so hält Referent zum Beispiel in der ihm vertrauteren Gattung *Cerastium* die Reihenfolge für eigenartig durchmischt. Auch die Artauffassung ist nicht stets in vollem Einklang mit herrschenden systematischen Meinungen, wobei solche Differenzen nicht immer durch karyologische Erfahrungen gestützt sind; so mag aus der bereits genannten Gattung das Artrecht des *C. litigiosum* füglich bezweifelt werden. Doch ist das ein weites Feld.

Man mag schon in diesen Bereichen zu der Auffassung gelangen, dass die Angabe der karyologischen Verhältnisse zwar ein sehr schätzenswertes Hilfsmittel systematischer Forschung ist, das in vielen Fällen gleichberechtigt neben morphologische, chorologische u. a. Daten treten soll, aber nicht etwa *per se* als Ordnungsprinzip Verwendung finden kann. Die Bedenken werden grösser, wenn die (doch immerhin noch recht unvollkommen bekannten) Daten zu systematischen Änderungen in höheren Rangstufen dienen. So wird man die interessante Gliederung in 12 Dikotylen- und 6 Monokotylenreihen etwas vorsichtig betrachten, zumal der mitteleuropäische Bereich nicht gerade zu einer Neuordnung des Gesamtsystems verlockt. Wenn man auch gerne dem (sicher diphyletischen) Anschluss der Primulales und Plumbaginales an die Centrospermae oder dem der Cucurbitales an die Parietales folgt, so erscheint andererseits etwa die Stellung der «Ericineae» innerhalb der (überhaupt etwas problematischen) «Disciflorae» doch recht gewagt, die «nahen Beziehungen» der Umbellales und Rubiales trotz «karyologischer Rechtfertigung» wenig glaubhaft.

Man wolle aus diesen, mehr die abgeleiteten Folgerungen als den an sich grossartigen Tatsachenbestand berührenden Bemerkungen nicht etwa eine abträgliche und im übrigen höchst unangebrachte Kritik herauslesen. Die Bewunderung des Referenten gilt uneingeschränkt dem überraschend reichen Material (es sind immerhin bereits 73% aller mitteleuropäischen Arten karyologisch untersucht, wenn auch manche nur in Einzelstücken), der so wertvollen und überaus genauen Zusammenstellung und den hochinteressanten karyologischen Erkenntnissen, vor allem hinsichtlich der Verbreitung der Polyploidie. Ausstattung, Anordnung und Druck sind ausgezeichnet. H. Merxmüller

Biochemistry and Physiology of Protozoa

Edited by André Lwoff

Vol. I, 400 pages
(Academic Press Inc. New York, 1951)
($ 8.80)

Das äusserst wertvolle Werk, dessen Erscheinen von allen Protozoenforschern lebhaft begrüsst werden wird, zerfällt in 7 Abschnitte, die von verschiedenen Autoren bearbeitet worden sind. 1. Introduction to Biochemistry of Protozoa. 2. The Phytoflagellates. 3. The Nutrition of Parasitic Flagellates (Trypanosomidae, Trichomonadinae). 4. Metabolism of Trypanosomidae and Bodonidae. 5. Nutrition of Parasitic Amebae. 6. Biochemistry of Plasmodium and the Influence of Antimalarials. 7. The Biochemistry of Ciliates in Pure Culture.

Wie der Herausgeber selber betont, ist es heute ganz unmöglich, eine vollständige Physiologie der Protozoen zu schreiben. Es ist um so verdienstvoller, dass sich Lwoff bemüht hat, einige ausgewählte Kapitel herauszustellen. Der 2. Band soll sich mit einer Reihe anderer Protozoen befassen, den Hypermastiginen, den Pansen-Ziliaten, den phagotrophen Flagellaten usw. Über den Inhalt des ersten Bandes kann in einem kurzen Referat kaum etwas gesagt werden, auf jeden Fall macht das Werk einen vorzüglichen Eindruck.

W. v. Buddenbrock

Chemistry of Muscular Contraction

By A. Szent-Györgyi

2nd edition, reviewed and enlarged, 162 pages
(Academic Press Inc., Publishers, New York, 1951)

Das in zweiter Auflage erschienene Buch des bedeutenden Muskelforschers wird überall mit lebhafter Freude begrüsst werden. Es bietet viel mehr, als der Titel besagt, da es nicht nur den Chemismus, sondern auch die Thermodynamik und die Energetik des Muskels behandelt. Das Buch gliedert sich in die folgenden Kapitel: I. Einführung; II. Die Struktur des Muskels; III. Der Muskel als Ganzes; IV. Die physikalische Desintegration des Muskels; V. Die chemische Desintegration des Muskels.

Nach diesen einleitenden Abschnitten werden in den Kapiteln VI–IX die wichtigsten Stoffe, welche der Muskel enthält, das Myosin, das Aktin und das Aktomyosin, besprochen. Die zweite Hälfte des Buches ist der Thermodynamik, XI. der Energetik und Mechanik, XII. dem Kontraktionszyklus, XIII. dem glatten Muskel und dem Herzmuskel gewidmet. Den Schluss bilden zwei kürzere Kapitel über die Kontinuumtheorie und «Wasser und Virus». Das Buch ist, abgesehen von zahlreichen Kurven, mit vielen ausgezeichneten Mikrophotographien versehen, die durchweg aus dem Laboratorium des Verfassers stammen. W. v. Buddenbrock

Die Einteilung des Nervensystems nach seinen Leistungen

Von L. R. Müller

2. Auflage, 74 Seiten und 21 zum Teil farbige Abbildungen
(Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1950)
(kart. DM 8.70)

Der Verfasser des Buches *Lebensnerv und Lebenstriebe* bringt in dieser kurzen Darstellung eine Einteilung des Nervensystems nicht auf Grund seiner äusseren Form noch seiner Lage, sondern stellt die Leistungen und Zuordnungen als Basis in den Vordergrund und unterscheidet somit ein Systema nervorum promundo, ein Systema nervorum myostaticum sowie ein Systema nervorum vitale. Er bringt somit hier die im erwähnten Buche dargelegten Zusammenhänge für das ganze Nervensystem zur Anwendung. Eine auf dieser Grundlage durchgeführte Betrachtunsgweise lässt sich nicht immer mühelos durchführen, bringt jedoch vielerlei Aspekte, die sicherlich sehr interessant sind. – Die Zusammenstellung ist mit teilweise farbigen Abbildungen reich illustriert und in 2. Auflage erschienen.

W. Bejdl

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Contribution à la chimiothérapie rationnelle de la tuberculose. Activité antituberculeuse de la bis-(dihydroxy-2,3-propoxyéthyl)-amine et de ses dérivés n-alcoylés

Par I. GRUNDLAND, P. RUMPF, R. GALLAND, N. CABAU et J. SADET[1]

Les recherches effectuées depuis plus d'un demi-siècle, concernant le problème de la tuberculose et de sa chimiothérapie, ont contribué à réduire notablement, dans ce domaine, l'écart existant entre les sciences physique, chimique et biologique. Ainsi, grâce au travail patient des chercheurs, il est actuellement permis de raisonner:

a) sur la constitution chimique du bacille qui provoque la maladie (B.K.);

b) sur la qualité de la réponse de l'organisme et en particulier sur la composition des lésions caséeuses caractérisant la tuberculose.

D'autre part, une connaissance parfaite de la structure de molécules douées d'activité thérapeutique autorise des efforts de synthèse en vue de déceler les liens de cause à effet entre les éléments du problème étudié.

Dans l'ensemble, cette étude se ramène à suivre les incidences possibles des agents chimiothérapeutiques sur les résultats de la rencontre entre les constituants du B.K. et ceux de l'organisme. Les faits accumulés concernant l'agent causal, *le B.K.*, et la réponse de l'organisme à son contact, *le caséum*, nous obligent à accorder une attention particulière à la fraction lipidique de ces éléments.

Il n'est pas sans intérêt de rappeler que le B.K. contient 22,7 à 30% de son poids sec en lipides, lipides particuliers puisqu'ils renferment des acides gras ramifiés et de poids moléculaires élevés: acides phtioïque, tuberculostéarique, mycolique ($C_{88}H_{76}O_4$). Les lipides extraits du bacille, comme d'ailleurs ces acides gras, suffisent seuls pour déterminer l'apparition d'une lésion tuberculeuse caractéristique caséifiée[2]. D'ailleurs, les acides gras ramifiés disubstitués en α(α,α-diméthylstéarique ou α,α-diméthyl-oléylacétique), obtenus par voie de synthèse (n'ayant donc pas été en contact avec le bacille) déterminent la même lésion[3]. Quant à la lésion caséeuse, elle est essentiellement constituée par un mélange de graisses (13,77% à 23,79 de son poids sec) et de protéines. Il semble donc y avoir, lors de la constitution de la lésion tuberculeuse, une rencontre entre les fractions grasses provenant du B.K. et de l'organisme avec mise à découvert de celles-ci.

Il est intéressant de noter que l'introduction d'une chaîne grasse dans une molécule envisagée en vue d'une action antituberculeuse contribue à faire apparaître ou à accentuer le pouvoir thérapeutique. Ainsi BARRY constate une activité antituberculeuse du mono-ester éthylique de l'acide α-méthyl-α'n-dodécyl succinique[1], activité liée d'un façon étroite à la présence de la chaîne grasse dans la constitution de la molécule.

AMES et BOWMAN[2], étudiant les pipéridines alcoylées et NODZU et collaborateurs[3] étudiant les dérivés de l'*o*-aminophénol, soulignent également l'importance de la chaîne grasse pour l'apparition de l'activité antituberculeuse. Le schéma de D'ARCY HART et collaborateurs[4] (éthers polyoxyéthyléniques du paratertioctyl phénol condensés par le formaldéhyde) comporte une chaîne grasse octylique. Le Triton A 20 (aryl alcoyl polyether du phénol) accentue le pouvoir antituberculeux de la streptomycine[5]. ERLENMEYER[6] observe une accentuation du pouvoir bactériostatique des amines aromatiques, substituées en para- par un groupement *R*–O, *R*–S, ou *R*–CO_2, en fonction de la longueur de la chaîne grasse du substituant. Enfin, tant pour le P.A.S.[7] (combinaisons avec les acides chaulmoogriques et d'autres acides à radical cyclopenténylique) que pour la streptomycine[8] (alcoyl-streptomycylamines), l'introduction d'une chaîne grasse semble favoriser l'activité thérapeutique.

Tout se passe comme si, pour ces substances, une constitution apparentée aux lipides par la présence d'une chaîne grasse augmentait la probabilité d'atteinte du B.K.

Vu sous l'angle de l'incidence de la fraction lipidique dans le problème étudié, on peut dire que la caséification est l'aboutissement de la grande affinité des lipides du bacille pour ceux du protoplasme. Cette affinité entraîne une décomposition (démixion) des complexes lipoprotéiques protoplasmiques: la structure fine de l'émulsion protoplasmique est détruite, les lipides mis à découvert s'agglomérant à ceux du bacille pour former le caséum. L'action thérapeutique devrait donc tendre à atténuer l'effet pathologique du bacille, en réduisant l'affinité qu'il a pour les autres lipides, ceci par l'emploi de substances qui soient susceptibles d'adhérer aux lipides du bacille par leur chaîne paraffinique et qui, portant des groupements fonctionnels hydrophiles, formeraient un écran polaire entre le B.K. et le milieu ambiant, réduisant son affinité pour les lipides.

Grosso modo, on peut retrouver le schéma de la conception pharmacodynamique proposée dans l'expérience de LANGMUIR[9] de prélèvement de couches monomoléculaires multiples sur lame métallique.

Cependant, en dehors de l'attraction latérale entre chaînes polyméthyléniques qui conditionnerait la caséifi-

[1] Laboratoire de Biochimie, Faculté de médecine, Paris, et Centre de recherche de Chimie organique, section de physico-chimie à Bellevue.

[2] R. ROBINSON, J. Chem. Soc. *1940*, 505.

[3] NG. PH. BUU HOI et A. RAKOTO RATSIMAMANGA, C. r. Soc. Biol. *137*, 189 (1943).

[1] V. C. BARRY et D. TWOMEY, Proc. roy. Irish Acad. [B] *51*, 192 (1947). – Voir également Mc. NALLY, Brit. J. exp. Path. *28*, 161 (1947).

[2] D. E. AMES et R. E. BOWMAN, J. Chem. Soc. *1952*, 1057.

[3] R. NODZU, H. WATANABE, J. OKA, CH. NAGAISHI, T. TERAMATSU, H. ARIMA, M. KOGAME et K. KOBAYASH, J. Pharmaceut. Soc. Japon *71*, 713 (1951).

[4] J. W. CORNFORTH, L. D'ARCY HART, R.J. W. REES et J.A. STOCK, Nature *168*, 150 (1951).

[5] M. SOLOTOROVSKY et F. J. GREGORY, Amer. Rev. Tuberculosis *65*, 718 (1952).

[6] H. BLOCH, G. BRUBACHER, H. ERLENMEYER et E. SUTER, Helv. chim. Acta *30*, 539 (1947).

[7] W. TATERKA, A. DEMOLIS et R. URSPORUNG, Exper. *7*, 28 (1951).

[8] W. A. WINSTEIN, C. I. JAROWSKI, F. X. MURPHY et W. A. LAZIER, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 3969 (1950).

[9] K. B. BLODGETT et J. LANGMUIR, Phys. Rev. *51*, 964 (1937) et Proc. roy. Soc. *1*, 170 (1939).

cation, mais également une éventuelle rétention des substances thérapeutiques, un aspect particulier au bacille de Koch est la présence de carboxyles provenant des acides gras libres de sa fraction lipidique. Ce dernier fait entraîne l'utilité de la présence de groupements basiques au voisinage de la chaîne grasse, afin d'aider la fixation de la molécule thérapeutique sur les substances du B.K. Certains produits médicamenteux seraient susceptibles de se fixer sur le bacille seulement par leurs groupements basiques (pour la streptomycine, les groupements guanidiques et aminés, le groupement aminé pour le P.A.S., l'azote basique du noyau de la pyridine pour l'hydrazide de l'acide isonicotinique[1]). Les molécules thérapeutiques conjuguant les deux aspects possibles de fixation au B.K. et comportant par ailleurs des groupements faiblement polaires, une fois fixées sur le B.K., lui communiqueraient un caractère polaire que le bacille n'avait pas auparavant, modifiant complètement et annulant le problème de la tuberculose tel qu'il ressort des faits cités.

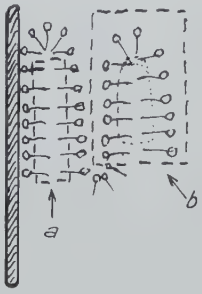


Fig. 1. *a* Problème de la tuberculose.–Attraction latérale entre chaînes polyméthyléniques amenant la caséification. *b* Son traitement–revêtement polaire.

Nous nous sommes efforcés d'étayer cette hypothèse de travail par des faits expérimentaux. Nous avons montré que toutes les fractions lipidiques préalablement émulsionnées dans le protoplasme cellulaire participent d'une façon homogène à la constitution du magma gras caséeux. Le caséum apparaît donc comme l'expression d'un trouble physique de la distribution des lipides, plutôt que comme une atteinte chimique d'une des fractions lipidiques (stérolique, phosphatidique ou glycéridique)[2].

Nous avons également prouvé la réalité de la liaison entre chaînes polyméthyléniques et mesuré l'énergie de liaison correspondante montrant son appartenance aux forces de Van der Waals, ce qui confirme donc l'hypothèse de travail[3]. Ainsi, en utilisant une balance de torsion supportant une lame enduite de cire de B.K., lame plongée dans une cuve dont la surface d'eau était couverte d'un film monomoléculaire d'acide gras, nous avons provoqué une rencontre entre les chaînes paraffiniques polyméthyléniques recouvrant d'une part la lame et d'autre part le plan d'eau[4]. L'affinité entre ces deux lipides était suivie par des mesures de la mouillabilité acquise par la lame de cire de B.K. Connaissant la profondeur de plongée de la lame (surface immergée), connaissant la surface en Å²/mol. occupée sur la lame par une molécule de l'acide gras et connaissant également la force correspondant à la mouillabilité acquise (par la balance de torsion), nous avons calculé l'énergie de liaison entre une molécule qui flottait en couche mince sur le plan de l'eau, et la lame de cire. Cette énergie (20×10^{-14} erg./mol. = 2900 cal/Mol-g) est d'un ordre de grandeur qui correspond bien à l'attraction latérale entre chaînes paraffiniques (forces de Van der Waals), plutôt qu'aux énergies mises en jeu par les réactions ioniques – ce qui concorde avec l'hypothèse émise concernant le mécanisme physico-chimique de l'atteinte tuberculeuse.

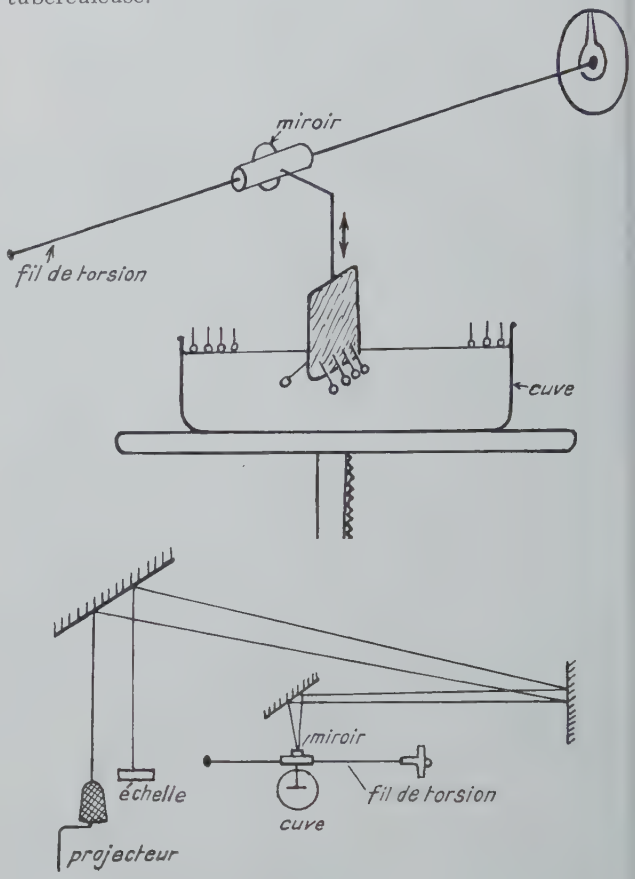


Fig. 2. Tensiomètre de mouillage de J. Guastalla, appareil présenté à la Société française de Physique, 49e Exposition d'Instruments de Matériel scientifique, 29 mai 1952. D'après J. Guastalla, L. Guastalla et H. Rosano, Bull. J.T.E.R.G. *1952*, 60.

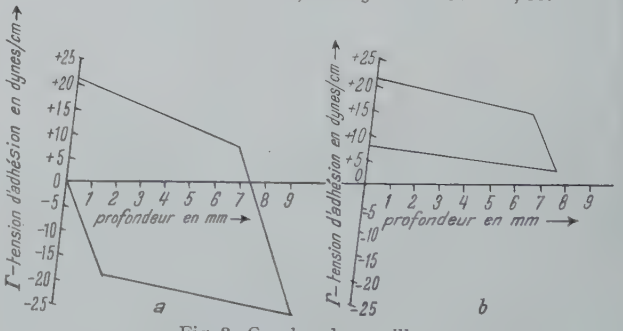


Fig. 3. Courbes de mouillage.
a Lame enduite de cire du B.K. sur eau pure; lectures toutes les 30″.
b Lame enduite de cire de B.K. sur eau couverte d'un film monomoléculaire d'acide oléique (p = 30 dynes); lectures toutes les 30″.

$$\Gamma = \frac{f}{\omega} = \frac{\Delta N \cdot 98}{\Delta N_{100\ \mathrm{mg}}\ \omega}$$

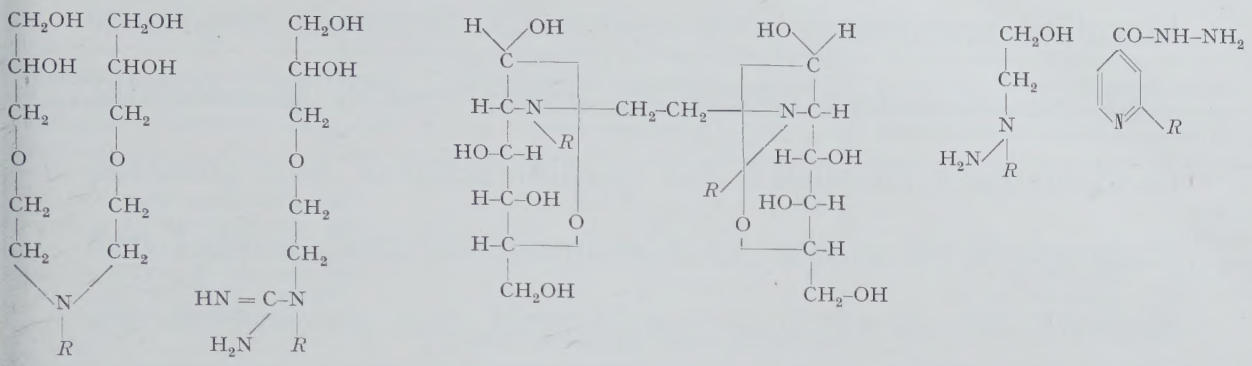
Γ = tension d'adhésion dynes/centimètres. ω = périmètre de la lame. ΔN = déviation du spot en centimètres.

[1] On connaît par ailleurs le pouvoir antiinflammatoire intense de l'I.N.H. qui interviendrait également dans son activité thérapeutique [R. Domenjoz, Schweiz. med. Wschr. *82*, 1023 (1952)].

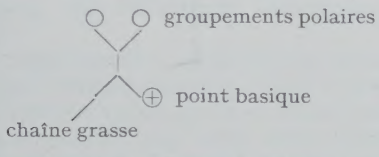
[2] I. Grundland, H. Bulliard et M. Maillet, Presse méd. *59*, 406 (1951).

[3] I. Grundland et D. Luzzati, C. r. Soc. Biol. *143*, 891 (1949). – I. Grundland, C. r. Acad. Sci. *232*, 74 (1951).

[4] I. Grundland et D. Luzzati, C. r. Soc. Biol. *143*, 891 (1949).

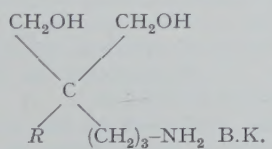


Ces prémices nous ont guidés dans l'élaboration d'un schéma structural utile à titre d'antituberculeux – en vue de la synthèse de substances thérapeutiques dont les molécules comportent une partie destinée à être orientée vers le B.K. afin de s'y fixer, et une autre, destinée à modifier les caractéristiques globales du complexe ainsi formé, tendant en particulier à ôter au bacille son caractère paraffinique, lui communiquant au contraire un aspect hydrophile par un ensemble de groupements faiblement polaires. Faiblement polaires, pour ne point risquer le départ de la substance médicamenteuse fixée aux matières du B.K., à la faveur d'une réaction ionique entre les groupements polaires de ce produit et les molécules environnantes. En suivant le schéma structural suivant[1]:



Nous avons effectué la synthèse de diverses molécules (voir les formules à la tête de cette page).

Peu après la publication de nos premiers résultats (27 février 1952), nous avons pris connaissance de la note de V.C. Barry (mars 1952)[2]: partant de considérations différentes des nôtres, Barry a réussi à obtenir des substances tuberculostatiques se rapprochant beaucoup des amines que nous avons préparées et notamment des alcoyl-δ,δ-bis-(hydroxyméthyl)-amines, où le même schéma structural se retrouve aisément.



C'est surtout la série des bis-(dihydroxy-2,3-propoxy-éthyl)-alcoylamines qui nous a servi pour éprouver la validité de l'idée pharmacodynamique exposée. Dans les synthèses de ces composés[3], nous avons pris soin de pourvoir la molécule d'une chaîne voisine d'un groupement alcalin, d'y incorporer par ailleurs un certain nombre de groupements faiblement polaires et de lier les deux entre eux solidement. Nous attendions une activité antituberculeuse d'une telle configuration moléculaire.

[1] I. P. Grundland, Rumpf et R. Galland, C. r. Acad. Sci. *234*, 1098 (1952).

[2] V. C. Barry et D. Twomey, Proc. roy. Irish Acad. [B] *55*, 3 (1952).

[3] Par condensation de la monochlorhydrine de la glycérine avec la diéthanolamine sodée ou ses homologues alcoylés à nombre varié de carbones (4 à 12).

Dès l'introduction d'une chaîne grasse dans l'édifice moléculaire, nous avons eu à envisager la balance hydrophile-lipophile de ces molécules. Ainsi l'étude de leur

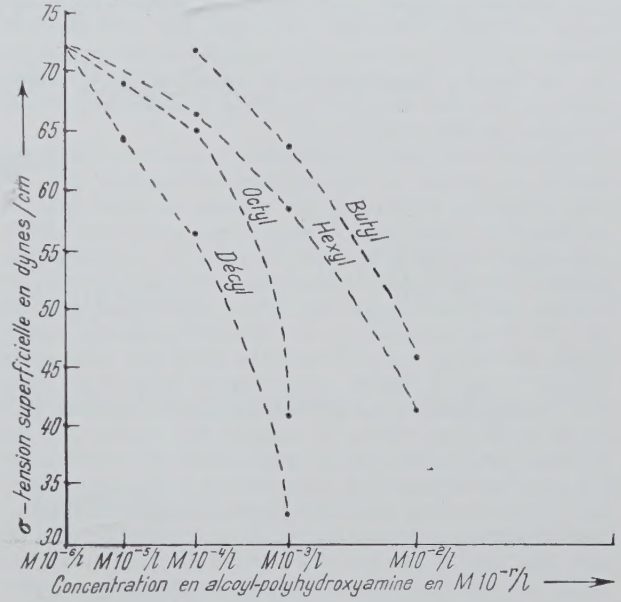


Fig. 4. Concentration en alcoyl-polyhydroxyamine en M.10^{-n}/l.–Absc. σ = tension superficielle en dynes/centimètres – Ord.

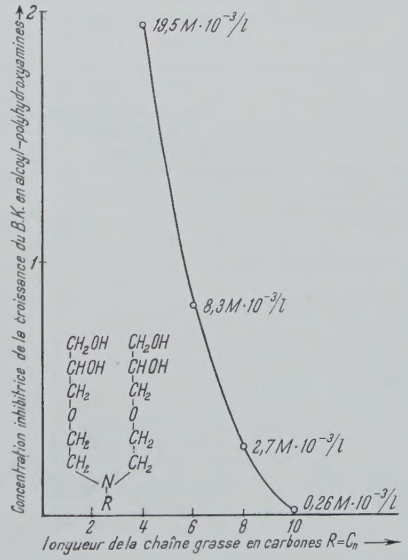

19,5 M·10⁻³/l
8,3 M·10⁻³/l
2,7 M·10⁻³/l
0,26 M·10⁻³/l
Concentration inhibitrice de la croissance du B.K. en alcoyl-polyhydroxyamines
Longueur de la chaîne grasse en carbones R=Cn

Fig. 5.
Longueur de la chaîne grasse en carbones R = Cn. – Absc.
Concentration inhibitrice de la croissance du B.K. en alcoyl-polyhydroxyamines. – Ord.

Tableau I

Concentration des alcoyl-polyhydroxy-amines au point d'activité isocapillaire de Freundlich (à 60 dynes/centimètres)	Tension superficielle à la concentration de $M \cdot 10^{-3}/1$ (en dynes/centimètres)	Taux d'inhibition totale de la croissance du B.K. souche Dupray S pour 1 cm³ milieu de culture (Dubos et Tween 80)
$R =$		(réduction croiss. 50%)
H	63	(6,6 mg 26 $M \cdot 10^{-3}/1$)
C_4H_9 15,87 $M \cdot 10^{-4}/1$	59,5	6 mg 19,5 $M \cdot 10^{-3}/1$
C_6H_{13} 8,71 $M \cdot 10^{-4}/1$	41	2,8 mg 8,3 $M \cdot 10^{-3}/1$
C_8H_{17} 2,188 $M \cdot 10^{-4}/1$	33	0,98 mg 2,7 $M \cdot 10^{-3}/1$
$C_{12}H_{25}$ 0,398 $M \cdot 10^{-4}/1$	28 (produit presque totalement en surface)	0,1 mg 0,26 $M \cdot 10^{-3}/1$

solubilité montre une dissolution parfaite des termes comportant des chaînes jusqu'à 8 carbones, alors qu'une opalescence apparaît à partir de l'homologue à 10 carbones et s'accentue pour les molécules plus lourdes. L'étude de la tension superficielle de ces solutions montre une tendance à l'enrichissement superficiel et à l'émergence de la phase aqueuse, d'autant plus accentuée que la masse du substituant croît.

Une activité bactériostatique vis-à-vis du B.K. en milieu de culture a été constatée et évolue dans le même sens que l'action de ces substances sur la tension superficielle. Ainsi, dans le schéma destiné à être bactériostatique, une telle activité est apparue, confirmant la justesse des prémices théoriques. De plus, alors que l'amine polyhydroxylée secondaire ne réduit que de 50% la croissance du B.K. au taux de 6,6 mg par centimètre cube de milieu de culture (et n'est donc nullement toxique pour ce bacille, même présente en forte concentration), ces amines polyhydroxylées alcoylées sont bactériostatiques. Elles le sont à des concentrations d'autant plus faibles que la chaîne grasse du substituant est plus importante: en proportions équimoléculaires, on obtient un effet bactériostatique, avec la décyl-polyhydroxyamine par exemple, à une concentration près de cent fois plus faible que celle qui, avec l'amine secondaire correspondante (non alcoylée) ne détermine qu'une réduction de 50% de la croissance bactérienne.

Tableau II

Cobayes de 300 g tuberculinisés par voie intra-dermique (inoculation B.K. souche Duparay S) traités par

Produit (Durée de traitement 30 jours)	Peau, Ganglions (Gravité maximum 4 pour chaque organe)	Rate	Total
Polyhydroxyamines			
$R = H$			
33 mg dans 1 cm³ par jour	3	4	7
$R = C_6H_{13}$			
18 mg dans 1 cm³ par jour	3	4	7
$R = C_8H_{17}$			
28 mg 5 dans 1 cm³ par jour	4	4	8
$R = C_{12}H_{25}$			
35 à 23 mg dans 1 cm³ par jour	Petite escarre Pas de ganglions		
	2	1	3
Streptomycine	Escarre cicatrisée		
15 mg dans 1 cm³ par jour	Ganglion caséeux		
	2	0	2
I. N. H.			
10 mg à 7 mg dans 1 cm³ par jour.	0	0	0

Dès qu'on déséquilibre suffisamment la balance lipophile-hydrophile en faveur de la phase lipophile, la substance émerge plus aisément de la phase aqueuse: il en résulte un enrichissement superficiel avec abaissement de la tension superficielle de l'eau, et corrélativement, la molécule tend à se fixer de mieux en mieux aux substances paraffiniques (légèrement acides) et en particulier, à celles du B.K. introduisant un écran de groupements hydroxyle entre les individus microbiens.

Les hydroxyles alcooliques sont peu réactifs. Nous pouvions donc nous attendre, lorsque la balance lipophile-hydrophile de la molécule, très nettement orientée en faveur de la phase lipidique, favorise la rencontre avec le B.K., à ce que cette molécule soit peu sollicitée par des substances à activité ionique appréciable. Une activité antituberculeuse durable *in vivo* était donc prévisible.

Des expériences préliminaires, actuellement reprises sur une plus large échelle, nous ont montré l'apparition d'un pouvoir protecteur pour les cobayes tuberculinisés par voie intradermique. Alors que l'amine secondaire non alcoylée et certains dérivés à chaîne trop courte (2, 4, 6 ou 8 carbones) provoquent l'aggravation et l'essaimage de la tuberculose expérimentale, avec la lauryl-polyhydroxyamine, une certaine protection s'est manifestée aux taux de 60 à 100 mg par kg, en injections intramusculaires, tant pour les organes profonds qu'au point d'inoculation. Il importe cependant de souligner que les premiers produits étudiés sont néanmoins très irritants par injections répétées: il serait donc fort imprudent de préjuger dès maintenant de leurs possibilités d'applications thérapeutiques.

La lauryl glycéroxy-éthyl guanidine reproduisant le même schéma structural est tuberculostatique à 40 γ par centimètre cube. L'hydroxyamine de Barry à même schéma structural est active à 50 γ.

Il apparaît donc que la somme des connaissances accumulées par l'analyse du problème de la tuberculose conduit à une synthèse efficace, englobant l'explication du mécanisme de la lésion et la façon d'y obvier.

Zusammenfassung

Eine Prüfung der Bedingungen zur Erzielung einer antibakteriellen Wirkung in der Tbc-Therapie hat uns dazu geführt, ein Molekülschema zu verwirklichen. Für eine gleiche Anzahl polarer Hydroxylreste enthaltender Gruppen, die durch ätherische Sauerstoffbrücken an den hydrophoben Teil des Moleküls gebunden sind, tritt in diesem Modell eine tuberkulostatische Wirkung auf, wenn das Molekül ausserdem eine basische Gruppe enthält. Die Wirkung wird noch verstärkt durch einen aliphatischen Rest in einer zur basischen Gruppe benachbarten Stellung.

Die Erforschung der Wirkstoffe des Mutterkorns beschäftigte namhafte Chemiker und Apotheker während Jahrzehnten. Einen ersten Markstein bedeutete die Entdeckung und Reindarstellung des Alkaloids Ergotamin in den Laboratorien der Sandoz A.G., wo in der Folge auch die Auffindung und Herstellung weiterer für die Medizin äusserst wertvoller Mutterkorn-Reinalkaloide gelang. Neue therapeutische Aspekte eröffnete die erstmals bei Sandoz erfolgte Hydrierung dieser Stoffe. Folgende Präparate sind das Ergebnis dieser Forschungen:

Cafergot

Dihydroergotamin-Sandoz

Gynergen

Hydergin

Methergin

Neo-Gynergen

Partergin

SANDOZ

S A N D O Z A. G.

Eine Monographie über den Stand der Mutterkorn-Forschung steht Interessenten zur Verfügung.

Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta

Seit 1943 offizielles Publikationsorgan des

SCHWEIZERISCHEN VEREINS DER PHYSIOLOGEN UND PHARMAKOLOGEN

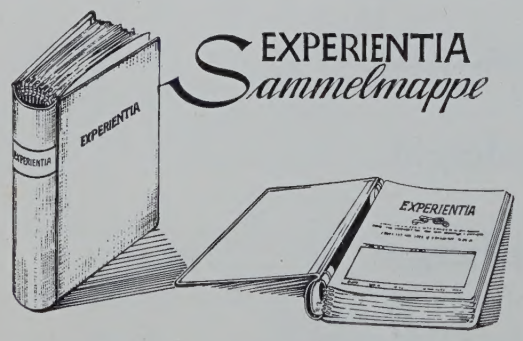
veröffentlicht Originalarbeiten aus den schweizerischen Forschungsstätten und orientiert damit über die Interessen der Fachkollegen in der Schweiz

Die Arbeiten erscheinen in deutscher, französischer, italienischer oder englischer Sprache mit Zusammenfassungen in mindestens zwei dieser Sprachen. ■ Die Zeitschrift erscheint vierteljährlich. Die vier Jahreshefte bilden einen Band von zirka 600–700 Seiten. Preis des Jahresabonnements Fr. 40.– zuzüglich Porto. Vorzugspreis für wissenschaftliche Institute Fr. 33.50 zuzüglich Porto.

Abonnements nimmt Ihr Buchhändler entgegen oder der

VERLAG BENNO SCHWABE & CO., BASEL 10

In folgenden Ländern kann die Zeitschrift auch bei den Postämtern abonniert werden: Belgien, Dänemark, Deutsche Bundesrepublik, Finnland, Holland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Österreich, Portugal und Schweden.



EXPERIENTIA *Sammelmappe*

Diese Mappe hat den Zweck, die Hefte des laufenden Jahrganges zusammenzuhalten, bevor der komplette Jahrgang gebunden werden kann. Die einzelnen Hefte können mittels einer neuartigen patentierten Haltevorrichtung in die Mappe eingeheftet und im Bedarfsfall wieder herausgelöst werden. Mit dieser geschmackvoll in Kunstleder gebundenen Mappe soll dem Übelstand abgeholfen werden, daß einzelne Hefte im Laufe des Jahres verloren gehen und vor dem Einbinden nachbezogen werden müssen. Die Sammelmappe ist so massiv konstruiert, daß sie ihren Dienst auf Jahre hinaus leisten wird.

Preis in Kunstleder gebunden: Fr. 6.75

BESTELLSCHEIN

An den VERLAG BIRKHÄUSER AG., BASEL 10 (Schweiz)
Ich bestelle... Sammelmappe(n) zum Preise von Fr. 6.75

Name: Vorname:

Ort: Straße:

Bitte in Blockschrift schreiben

Soeben ist erschienen:

JUSTUS VON LIEBIG

in eigenen Zeugnissen und solchen seiner Zeitgenossen

Auf Veranlassung der Gesellschaft Liebig-Museum Giessen
Zusammengestellt von HERTHA VON DECHEND
Mit einem Geleitwort von WILLY HARTNER

1953. 141 Seiten mit 3 Tafeln. Ganzleinen DM 8.40

Aus einer Besprechung: «Es wird hier auf kleinem Raum und in origineller Weise ein Charakterbild von Liebig gegeben, zu dessen Zeichnung geschickt ausgewählte Striche und Farben aus der grossen Liebig-Literatur verwendet sind, bereichert um einige Auszüge aus bisher nicht veröffentlichten Briefen. Die auf diesem Wege zustandegekommene «Autobiographie» ist im Grunde aufschlussreicher als eine von fremder Hand verfasste Lebensbeschreibung, wenn sie auch auf manches Tatsachenmaterial verzichten muss. – Aber dafür formt sich aus der Lektüre dieses kleinen Buches Liebigs Persönlichkeit klar und plastisch in ihrer unvergleichlichen Eigenart und Grösse...»

Heinrich Wieland in Angewandte Chemie, 10/1953

VERLAG CHEMIE, GMBH.,
WEINHEIM/BERGSTRASSE